

ESTUDI DE LA COMPOSICIÓ QUÍMICA DE LA PLANTA CONOCEPHALUM CONICUM DE LA CONCA DEL MEDITERRANI



Belén Hidalgo Martín

Tutor: Xavier de las Heras

Escola Politècnica Superior d'Enginyeria de Manresa
UPC-Manresa

Resum

En aquest projecte es descriu l'estudi realitzat per a la determinació dels compostos presents en l'hepàtica *Conocephalum conicum* i la quantificació d'aquests, fent servir una anàlisi de cromatografia de gasos acoblada amb una espectrometria de masses (GC-MS).

Dintre dels compostos identificats, destacar que cap dels 8 alcohols trobats en la mostra no estaven presents en cap dels articles consultats. En el cas dels terpens, tampoc s'ha pogut constatar la presència d'aquests en cap dels articles consultats però en canvi si que hi constaven altres de la mateixa família.

Abstract

In this dissertation, the study realized to determine the components that can be found in the liverwort *Conococephalum Conicum* is described, as well as the quantification of them, by using a gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS).

Among the components identified, emphasise that none of the 8 alcohols identified in the sample were not found in the articles consulted. Concerning the terpenes, it cannot have been confirmed the appearance of them in the literature, on the other hand, in this articles, other components that have not been identified in the sample have been found.

Índex

Resum	1
Abstract	2
1. Paraules clau	4
2. Llistat de figures i taules	5
2.1. Figures	5
2.2. Taules	6
3. Objectiu.....	7
4. Introducció	8
4.1. <i>Conocephalum conicum</i>	8
4.1.1. Descripció botànica	10
4.1.2. Descripció química	12
5. Metodologia	19
5.1. Preparació i extracció de la mostra	19
5.2. Cromatografia de gasos – Espectrometria de masses.....	21
5.3. Identificació dels compostos	22
6. Resultats i discussió	28
6.1. Càlculs quantificació	32
7. Conclusions	53
8. Bibliografia	54

1. Paraules clau

Conocephalum conicum, hepaticae, liverwort, composition, alcohol, aldehyde, alkane, hydroxyacid, terpene, mass spectra, botànica, chemical constituents,

2. Llistat de figures i taules

2.1. Figures

Figura 1. Parts de la <i>Conocephalum conicum</i>	10
Figura 2. Espores <i>Conocephalum conicum</i>	11
Figura 3. <i>Conocephalum conicum</i>	11
Figura 4. Aparell Fisons MD800.....	21
Figura 5. Columna capil·lar DB-5MS.....	21
Figura 6. Pantalla inicial Xcalibur Qual Browser.....	22
Figura 7. Ampliar cromatograma.....	23
Figura 8. Espectre de masses.....	23
Figura 9. Identificar compostos.....	24
Figura 10. Funció Search.....	24
Figura 11. Netejar sagnat de la columna.....	25
Figura 12. Càlcul àrea.....	25
Figura 13. Opcions de visualització.....	26
Figura 14. Opcions de rètol.....	26
Figura 15. Valor de l'àrea.....	27
Figura 16. Cromatograma 1.....	28
Figura 17. Cromatograma 2.....	28
Figura 20. Cromatograma 5.....	29
Figura 19. Cromatograma 4.....	29
Figura 18. Cromatograma 3.....	29
Figura 21. Cromatograma 6.....	30
Figura 22. Cromatograma 7.....	30
Figura 23. Espectre de masses derivat de l'elemene (10.09).....	36
Figura 24. Espectre de masses derivat de l'elemene (10.32).....	36
Figura 25.. Espectre de masses de l'elemene.....	36
Figura 26. Espectre de masses del kaurene de la mostra.....	37
Figura 27. Espectre de masses del kaurene.....	37
Figura 28. Cromatograma del glicerol de la mostra.....	43
Figura 29. Cromatograma glicerol de la NIST.....	44
Figura 30. Espectre de masses del docosanol de la mostra.....	44
Figura 31. Espectre de masses del tricosanol de la mostra.....	44
Figura 32. Espectre de masses del tricosanol.....	45
Figura 34. Espectre de masses del tetracosanol.....	45
Figura 33. Espectre de masses del tetracosanol de la mostra.....	45
Figura 35. Espectre de masses de l'hexacosanol de la mostra.....	46

Figura 36. Espectre de masses de l'heptacosanol.	46
Figura 37. Espectre de masses de l'heptacosanol de la mostra.	46
Figura 38. Espectre de masses de l'octacosanol de la mostra.....	47
Figura 39. Espectre de masses del triacontanol de la mostra.	47
Figura 40. Espectre de masses del campesterol de la mostra.	48
Figura 41. Espectre de masses del campesterol.....	48
Figura 42. Espectre de masses de l'estigmasterol de la mostra.	49
Figura 43. Espectre de masses de l'estigmasterol.	49
Figura 44. Espectre de masses del sitosterol de la mostra.	49
Figura 45. Espectre de masses del sitosterol.....	50
Figura 46. Espectre de masses de la oleamida de la mostra.	50
Figura 47. Espectre de masses de la oleamida.....	51
Figura 48. Espectre de masses de l'oleonitril de la mostra.	51
Figura 49. Espectre de masses de l'àcid 22-hidroxidocosanoic de la mostra. .	51
Figura 50. Espectre de masses del 1-monolinoleoilglicerol.....	52

2.2. Taules

Taula 1. Classificació de la <i>Conocephalum conicum</i>	8
Taula 2. Resum compostos <i>Conocephalum conicum</i>	12
Taula 3. Compostos trobats a la mostra.....	31
Taula 4. Àrees dels compostos de la mostra.....	34
Taula 5.Quantificació dels compostos de la mostra.	35
Taula 6. Composició dels àcids de la mostra.	39

3. Objectiu

L'objectiu del treball és estudiar la composició química qualitativa i quantitativa, concretament de la fracció lipídica, d'una planta mitjançant cromatografia de gasos i espectrometria de masses. La planta a estudi es tracta d'una hepàtica de la font de les Tàpies, situada en el terme municipal de Navarcles, la *Conocephalum conicum*, de la família de les *Conocephalaceae*. A partir dels resultats obtinguts es determinarà quins compostos formen part de la fracció soluble en dissolvents orgànics i quins mai s'han descrit en aquesta planta en comparació amb la literatura publicada.

4. Introducció

Així com en molts països d'Europa i d'Àsia se li dóna molta importància a l'estudi de la composició de les plantes, sobretot en els països orientals ja que en gran part dels tractaments de malalties es fan servir plantes degut a la elevada creença instaurada sobre la medicina tradicional, a l'estat espanyol pràcticament no s'han dedicat recursos a realitzar estudis sobre les plantes. En els estudis realitzats internacionalment sobre la família de les hepàtiques, en la majoria d'ells es basa en la cerca dels compostos que tinguin propietats medicinals.

La composició de les plantes és de gran interès ja que depenent de la zona en la qual hagi crescut o en la etapa de creixement en la que es trobi la planta, variarà la seva composició tant els components que la formen com la quantitat d'aquests.

4.1. *Conocephalum conicum*

Les hepàtiques formen un grup de plantes anomenat *Hepaticophyta* (*Marchantiophyta*, *Hepatophyta* o *Hepaticae*), el qual comprèn 6000 espècies (Asakawa, 2007). Les hepàtiques s'anomenen així ja que les seves fulles tenen forma de fetge. Habiten espais humits i amb ombres, creixen especialment en zones amb roques, arbres o llocs on el sòl es ferm i cobreixen grans superfícies de terra.

La classificació científica de la *Conocephalum conicum* és la següent:

Regne	<i>Plantae</i>
Divisió	<i>Marchantiophyta</i>
Classe	<i>Marchantiopsida</i>
Ordre	<i>Marchantiales</i>
Família	<i>Conocephalaceae</i>
Gènere	<i>Conocephalum</i>
Espècie	<i>Conocephalum conicum</i>

Taula 1. Classificació de la Conocephalum conicum.

Segons un estudi realitzat per la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) la *Conocephalum conicum* es una espècie gairebé amenaçada, això vol dir que ha estat avaluada segons els criteris de la UICN per determinar si una planta està en Perill Crític, en Perill o Vulnerable, i actualment no els satisfà, però està pròxim i per tant possiblement en un futur proper els compleixi. L'estudi que es realitza es basa en:

- A. Reducció de la mida de la població.
- B. Distribució geogràfica en la forma B1 (extensió de presència) o B2 (àrea d'ocupació) o ambdues formes.
- C. Anàlisi quantitativa que mostra la probabilitat d'extinció de vida silvestre en un període màxim de 100 anys.

Propietats medicinals

La *C. conicum* té propietats medicinals com ara antimicrobianes, antifúngiques, antipirètiques, també té activitat d'antídot per curar talls, escaldades, fractures, teixit inflammat, mossegades de serps verinoses i càlculs biliars.(Asakawa 2007)

Citotoxicitat

En algunes hepàtiques s'han aïllat eudesmanolides i germacranolids que posseeixen activitat inhibidora enfront de cèl·lules KB, les quals són conegudes com una sublínia de la omnipresent queratina formadora de cèl·lules tumorals. En el cas de la *C. conicum* s'ha trobat que conté guaianolides que es va demostrar que tenen activitat citotòxica enfront la leucèmia limfocítica P-388.

Activitat inhibidora de l'alliberament de superòxid

La *C. conicum* conté biciclogermacrenal, un compost el qual inhibeix l'alliberament del superòxid, un excés d'anió superòxid radical (O_2^-) en organismes causa diverses angiopaties, com per exemple un infart de miocardi o l'esclerosi arterial.

4.1.1. Descripció botànica

La *Conocephalum Conicum*, és una hepàtica d'ampli tal·lus que pertany a la ordre de les *marchantiales* i és una de les més comuns a la comarca del Bages. Dintre d'aquesta ordre és la de major mida, arribant a mesurar fins a 20 cm.

Les fulles són de color verd fosc amb marges de color porpra, la part posterior d'aquestes està coberta de petits relleus en forma hexagonal, el qual li dóna una aparença de pell de serp, fet que dóna un dels noms comuns de la planta en anglès, *snakeskin liverwort*.

En el centre de cada hexàgon hi ha un porus, que és realment una ruptura en la epidermis sobre la part superior de una càmera d'aire. En la Figura 1 es mostra una secció transversal del tal·lus amb la identificació de cadascuna de les parts.

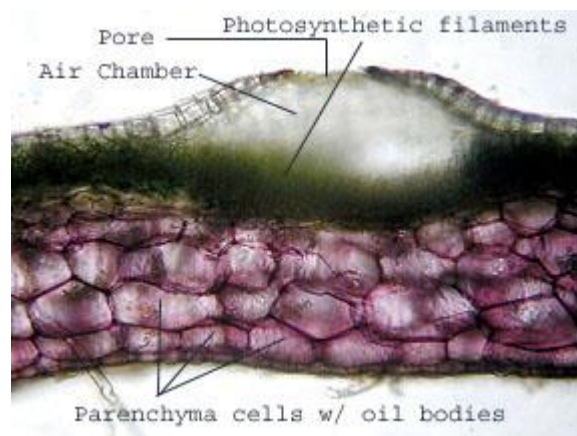


Figura 1. Parts de la *Conocephalum conicum*.

La massa de color porpra són cèl·lules parenquimàtiques, les quals componen la major part del cos del organisme. En la secció també es poden apreciar filaments de color verdós, els quals contenen cloroplasts i que per tant permeten realitzar la fotosíntesi.

La *Conocephalum conicum* emet una forta olor que s'assembla força a la de terra humida, bastant característica en èpoques de creixements de fongs. En quant al gust de la planta, és amarga i a més a més picant. El fet de que desprengui aquesta forta olor, li dóna un dels altres noms comuns amb els que es coneix la planta, *Great Scented Liverwort*.

La *Conocephalum Conicum* es reproduïx asexualment per esporulació. Una vegada s'ha realitzat la fertilització, la càpsula adherida al tal·lus, es desenvolupa formant un bolet, d'aquí que un dels altres noms que hagi adoptat sigui *Common mushroom-headed liverwort*.



Figura 2. Espores *Conocephalum conicum*.

És una planta bastant difosa en zones molt humides o zones de polvorització d'aigua dolça.



Figura 3. *Conocephalum conicum*.

La *Conocephalum conicum* pot arribar a suportar temperatures de fins aproximadament 34 °C. Es pot submergir part de l'any ja que es tracta d'una espècie supra-aquàtica. Capta els nutrients directament de l'aigua o de l'aire humit. Té una gran resistència contra metalls tòxics o metal·loides de desintoxicació. La població d'aquesta espècie ha anat disminuint, fins i tot desapareixent, al llarg del temps de zones altament contaminades, ja que té la capacitat de capturar productes indesitjables o contaminants molt tòxics o radioactius.

4.1.2. Descripció química

En l'estudi de la composició de la planta s'ha realitzat una recerca de literatura, així com un experiment, per tal de demostrar empíricament la presència dels compostos trobats bibliogràficament.

Pel que fa als compostos trobats en els articles, la majoria tracten de terpens i compostos aromàtics, això es degut a la presència de oleosomes, els quals són uns orgànuls molt peculiars que permeten l'emmagatzematge de lípids i l'acumulació dels dos grups de compostos citats al inici del paràgraf.

En l'estudi realitzat per Asakawa (*Ludwiczuk, Odrzykoski i Asakawa 2013*) sobre components volàtils presents en les hepàtiques, es confirma la teoria de que la presència d'aquests compostos és força elevada i representa, en gairebé totes les espècies, la major part de la composició química de la planta tal i com es mostra en la següent taula:

Compostos	Espècies*									
	A1	A2	F1	F2	J1	J2	L1	L2	L3	L4
Monoterpens	21.2	2.0	16.2	19.3	27.2	29.9	18.6	19.7	20.1	19.9
Monoterpens oxigenats	0.2	tr	-	tr	4.6	-	tr	tr	tr	tr
Sesquiterpens	18.3	28.6	19.6	35.3	26.5	15.6	38.5	12.9	32.9	20.2
Sesquiterpens oxigenats	27.7	39.2	48.4	1.0	10.5	26.3	12.5	40.3	26.5	32.6
Alifàtics	5.8	11.0	6.2	29.7	10.8	8.4	5.4	7.9	3.7	1.7
Aromàtics	16.6	1.5	-	-	-	0.2	1.8	-	0.2	6.1
Total	89.9	82.3	90.5	85.3	79.6	80.4	76.8	80.2	83.4	80.5

Taula 2. Resum compostos *Conocephalum conicum* (Ludwiczuk, Odrzykoski i Asakawa 2013).

*Codificació de les espècies

Codi	Localització
A1	Carolina del nord, EEUU
A2	Carolina del nord, EEUU
F1	Kyushu, Japó
F2	Kyushu, Japó
J1	Honshu, Japó
J2	Miyazaki, Japó
L1	Toscana, Itàlia
L2	Caucasus, Georgia
L3	Creta, Grècia
L4	Catalunya, Espanya

Es pot veure com predominen els sesquiterpens i els sesquiterpens oxigenats en la major part de les mostres analitzades.

Com s'ha comentat anteriorment, la composició de la planta varia, tant els compostos que la formen, com la quantitat d'aquests. Això es veu clarament en l'article d'Asakawa (Ludwiczuk, Odrzykoski i Asakawa 2013).

Compostos	Espècies									
	A1	A2	F1	F2	J1	J2	L1	L2	L3	L4
α -Pinene	-	-	-	-	0,4	-	tr	tr	tr	tr
Camphene	1	-	0,3	2,7	2,1	-	0,8	0,8	0,8	0,8
Sabinene	17,7	2	13,8	16,6	21,2	25	16,1	17,5	17,5	17
β -Pinene	1,1	-	1,2	tr	1,2	1,4	0,8	0,6	0,8	0,7
Limonene	1,4	tr	0,9	tr	2	2	0,9	0,8	1	1,3
Terpinolene	-	-	-	-	0,3	0,3	tr	tr	tr	0,1
1-Octen-3-yl acetate	3,3	1,5	3,9	19	7,4	5,2	1,3	2,6	2,7	0,4
Bornyl acetate	0,2	tr	-	tr	4,6	-	tr	tr	tr	tr
Brasila-1,10-diene	-	-	-	-	-	-	0,2	0,8	1,2	1,7
Brasila-5,10-diene	-	-	-	-	-	-	0,8	0,6	4,6	7,8
Bicycloelemene	1,5	2,3	0,1	tr	0,5	2,7	0,3	-	0,3	-
204[M] ⁺ ,161(100),105(95)	0,6	1	tr	tr	tr	-	-	-	-	-
204[M] ⁺ ,135(100),105(90)	0,5	0,8	-	-	0,2	0,2	-	-	-	-
3,4-Dimethoxystyrene	-	-	-	-	-	0,2	1,8	-	0,2	6,1
(E)-Methylcinnamate	16,6	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
Brasila-5(10),6-diene	-	-	-	-	-	-	0,9	0,7	0,3	0,3
cis- β -Elemene	4,2	6,8	1,2	1,8	4,4	2,4	1,3	0,3	1,1	0,2
α -Gurjunene	0,3	-	1,1	-	0,2	tr	-	-	tr	tr
β -Ylangene	-	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-
β -Caryophyllene	3	5,2	-	-	13,2	2,1	-	-	-	-
Aristolene	-	-	-	-	-	-	5,4	-	3,9	-
Bourbon-11-ene	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
β -Copaene	-	-	-	1,6	0,5	-	-	-	-	-
Aristola-1(10),8-diene	-	-	-	-	-	-	7,8	-	5,8	-
Calarene	1,4	2,2	-	-	-	-	3,1	-	2,3	-
Brasila-1(6),5(10)-diene	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	1,9
Nardosina-7,9,11-triene	-	-	-	-	-	-	4,6	-	5	-
202[M] ⁺ ,159(100),131(70)	-	-	2,4	-	-	0,4	-	-	-	-
Cadina-3,5-diene	1,3	1,9	-	0,9	-	-	-	-	-	-
ϵ -Muurolene	-	-	-	1,3	-	0,3	-	-	-	-
Selina-4,11-diene	-	-	-	-	-	-	0,7	-	5	-
Germacrene D	0,6	1,2	1,6	22,4	7,2	2,5	-	-	-	-
Isolepidozene	1,1	1,4	-	1,2	tr	0,2	12,9	10,3	3,4	8,3

Compostos	Espècies									
	A1	A2	F1	F2	J1	J2	L1	L2	L3	L4
Bicyclosesquiphellandrene	2	3,1	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Selinene	-	-	-	2,6	-	-	-	-	-	-
Bicyclogermacrene	-	-	-	-	-	4,8	0,5	tr	tr	tr
Conocephalenol	-	-	-	-	-	-	1,9	2	9,1	11,2
α -Muurolene	-	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-
202[M] ⁺ ,102(100),166(85)	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-
Cubebol	17,9	28	-	tr	2,6	1,4	-	-	-	-
222[M] ⁺ ,123(100),166(95)	-	-	-	-	-	-	0,4	0,4	2,1	2,9
δ -Cadinene	1,4	2,1	-	tr	0,3	-	-	-	-	-
Cadina-1,4-diene	0,4	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Presilphiperfolane-9 α -ol	-	-	-	-	-	7,6	-	-	-	-
Elemol	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
Dactylol	-	-	-	-	-	-	0,4	0,4	2	2,6
1(10),5-Germacradiene-4 α -ol	0,7	1,4	2,4	tr	0,5	0,9	0,6	0,2	0,4	0,2
222[M] ⁺ ,207(100),161(50)	1,4	2,3	0,6	-	-	-	-	-	-	-
Viridiflorol	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-
220[M] ⁺ ,107(100),43(40)	-	-	-	-	-	3,3	-	-	-	-
1(10)E-Lepidozen-5-ol	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
1-Epi-cubebol	2,7	4,1	-	-	-	-	-	-	-	-
1(10),5-Germacradiene-11-ol	0,8	2,4	-	1	7,2	3,7	0,2	tr	-	-
220[M] ⁺ ,162(100),105(60)	-	-	2,8	-	-	-	-	-	-	-
222[M] ⁺ ,81(100),107(95)	-	-	-	-	-	-	-	-	10,1	-
Trans- γ -monocyclofarnesol	3,9	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
Bicyclogermacren-14-al	-	-	-	-	-	-	0,2	3,5	1,1	8,8
220[M] ⁺ ,121(100),107(95)	-	-	-	-	-	-	7,7	33,8	1,2	6,9
Albicanol	-	-	-	-	-	1,9	-	-	-	-
Cyclocolorenone	-	1	41,1	-	-	-	-	-	-	-
1(10),4-germacradien-12-al	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-
218[M] ⁺ ,203(100),147(60)	-	-	-	-	-	-	1,1	-	0,5	-
Drimenol	0,3	tr	-	-	-	2	tr	-	-	-
Neophytadiene (izomer I)	1,3	3,6	0,8	5	1,7	1,2	2,2	2,8	0,5	1
Neophytadiene (izomer II)	0,2	0,6	0,8	0,9	0,3	-	0,2	0,4	tr	tr
Neophytadiene (izomer III)	0,4	1,1	0,2	1,7	0,5	-	0,5	0,7	0,1	tr
Hexadecanoic acid	-	1,6	-	-	tr	0,8	tr	-	-	tr
6,9,12,15-Heneicosatetraene	0,3	1,2	0,3	1,9	0,5	0,7	0,7	1	0,2	0,2
216[M] ⁺ ,173(100),145(95)	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
Phytol	0,3	1,4	0,2	1,2	0,4	0,5	0,5	0,4	0,2	0,1

En la taula es pot observar com tot i pertànyer totes a l'espècie *Conocephalum conicum* al tractar-se de mostres de diferents situacions geogràfiques del món varia bastant la composició d'aquestes. Fins i tot quan es tracta de exemplars del mateix país hi ha grans diferències entre ells.

Exemplars dels EEUU (A)

Tot i ser les dues mostres de Carolina del nord hi ha compostos que tenen concentracions diferents, i fins i tot algun que no hi és en un dels exemplars:

- Sabinene → en el cas de la mostra A1 es troba amb una concentració de 17.7 i en la mostra A2 amb una concentració de 2.
- E-methylcinnamate → en el cas de la mostra A1 es troba amb una concentració de 16.6 i en la mostra A2 amb una concentració de 1.5.
- Trans- γ -monocyclofarnesol → en el cas de la mostra A1 es troba amb una concentració de 39 i en la mostra A2 no hi és present.
- Cubebol → en el cas de la mostra A1 es troba amb una concentració de 17.9 i en la mostra A2 amb una concentració de 28.

Exemplars de Japó (F)

Encara que les dues mostres s'han recollit a Kyushu tenen una composició diferent:

- 1-octen-3-yl acetate → en el cas de la mostra F1 es troba amb una concentració de 3.9 i en la mostra F2 amb una concentració de 19.
- β -ylangene → en el cas de la mostra F1 no es troba present i en la mostra F2 es troba present amb una concentració de 3.5.
- Cyclocolorenone → en el cas de la mostra F1 es troba amb una concentració de 4.1 i en la mostra F2 no hi és present.

Exemplars de Japó (J)

Els exemplars han estat collits al Japó però al ser de diferent zona, un de Honshu i l'altre de Miyazaki, també presenten diferències en la composició:

- β -caryophyllene → en el cas de la mostra J1 es troba amb una concentració de 13.2 i en la mostra J2 amb una concentració de 2.1.
- Presilphiperfolane-9 α -ol → en el cas de la mostra J1 no es troba present i en la mostra J2 es troba present amb una concentració de 7.6.
- 1(10),4-germacradien-12-al → en el cas de la mostra J1 no es troba present i en la mostra J2 es troba present amb una concentració de 5.

Exemplars d'Europa (L)

Tots les mostres són d'exemplars d'Europa però al ser de diferents zones la composició varia, tant en quantitat com en qualitat:

- Brasila-5,10-diene → en el cas de la mostra L1 el compost es troba amb una concentració de 0.8, en la mostra L2 amb una concentració de 0.6, en la mostra L3 amb una concentració de 4.6 i en la mostra L4 amb una concentració de 7.8.
- Aristola-1(10),8-diene → en el cas de la mostra L1 el compost es troba amb una concentració de 7.8, en la mostra L2 no es troba present, en la mostra L3 amb una concentració de 5.8 i en la mostra L4 tampoc es troba present.
- Conocephalenol → en el cas de la mostra L1 el compost es troba amb una concentració de 1.9, en la mostra L2 amb una concentració de 2, en la mostra L3 amb una concentració de 9.1 i en la mostra L4 amb una concentració de 11.2.

Per tal de facilitar la descripció dels compostos que formen la *Conocephalum conicum* s'han agrupat per famílies.

Terpenoides

Els terpenoides és el nom que se li atribueix al grup de compostos format per terpens i terpens modificats. Un terpè, també anomenat isoprenoide, és una classe de compostos orgànics formats per la unió de molècules d'isoprè, un hidrocarbur de cinc àtoms de carboni.

Els compostos trobats de la família dels terpens en la literatura consultada són:

α -pinene, camphene, sabinene, β -pinene, limonene, terpinolene, brasila-1,10-diene, brasila-5,10-diene, bicycloelemene, brasila-5(10),6-diene, cis- β -elemene, α -gurjunene, β -ylangene, β -caryophyllene, aristolene, bourbon-11-ene, β -copaene, aristola-1(10),8-diene, calarene, brasila-1(6),5(10)-diene, nardosina-7,9,11-triene, cadina-3,5-diene, ϵ -muurolene, selina-4,11-diene, germacrene D, isolepidozene, bicyclosesquiphellandrene, α -selinene, bicyclogermacrene, conocephalenol, α -muurolene, cubebol, δ -cadinene, cadina-1,4-diene, presilhiperfolane-9 α -ol, elemol, dactylol, 1(10),5-germacradiene-4 α -ol, viridiflorol, 1(10)E-lepidozen-5-ol, 1-epi-cubenol, 1(10),5-germacradiene-11-ol, trans- γ -monocyclofarnesol, bicyclogermacren-14-al, albicanol, cyclocolorene, 1(10),4-germacradien-12-al, drimenol, neophytadien (isomer I), neophytadien

(isomer II), neophytadien (isomer III), 6,9,12,15-heneicosatetraene, phytol, germacradien-11-ol, β -selinene, α -thujene, myrcene, α -phellandrene, α -terpinene, β -phellandrene, p -cymene, γ -terpinene, bornyl acetate, 4-hydroxycinnamate, bornyl 2-methoxy, 2 α ,5 β -dihydroxybornane-2-cinnamate, 2 α ,5 β -dihydroxybornane-5-acetyl-2-cinnamate, 2 α ,5 β -dihydroxybornane-2- p -cinnamate, 2 α ,5 β -dihydroxybornane-2-cis- p -cinnamate, 3,4-dimethoxystyrene, 8-acetoxyzaluzanin C, 8-acetoxyzaluzanin D i estigmasterol.

Àcids

Els àcids són compostos els quals quan es dissolen en aigua, produeixen una solució amb un pH menor a 7.

Els compostos trobats de la família dels àcids en la literatura consultada són:

Àcid palmític, palmitat d'etil, àcid hexadecenoic, àcid esteàric, àcid oleic, àcid linoleic, àcid linolènic, àcid araquídric, àcid araquidònic, àcid làuric, àcid mirístic, àcid pentanoic, àcid gadoleic, àcid eicosatrienoic, àcid araquidònic, àcid behènic, àcid lignocèric, àcid ceròtic, àcid tricosanoic, àcid margàric i àcid heneicosanoic.

Hidroxiàcids

Els hidroxiàcids són una classe de compostos que consisteixen en un àcid carboxílic substituït en el carboni adjacent amb un grup hidroxil.

Els compostos trobats de la família dels hidroxiàcids en la literatura consultada són:

Àcid α -hidroxihexadecanoic, àcid 15-hidroxihexadecanoic, àcid 16-hidroxihexadecanoic, àcid 2-hidroxi-octadecanoic, àcid 2-hidroxidocosanoic, àcid 2-hidroxitricosanoic, àcid 2-hidroxitetracosanoic, àcid 2-hidroxitetracontanoic i àcid 2-hidroxitricontanoic.

Flavonoides

Els flavonoides són una varietat de compostos fenòlics sintetitzats per les plantes superiors durant el seu creixement i desenvolupament.

Els flavonoides trobats en la literatura consultada són:

Apigenin 7-O-glucuronide, apigenin 7-O-glucuronide-4-O-glucuronide, chrysoeriol, chrysoeriol 7-O-glucuronide-4-O-glucuronide, lucenin-2, luteolin, luteolin 7,3'-di-O-glucuronide, luteolin 7-O-glucuronide-4-O-glucuronide, luteolin 7-O-glucuronide-3',4'-di-O-rhamnoside, vicianin-2.

5. Metodologia

Per tal d'identificar els compostos presents en la planta mitjançant una anàlisi cromatogràfica, cal realitzar prèviament la preparació de la mostra. Aquest procés va ser dut a terme al laboratori de química de la Universitat Politècnica de Catalunya de Manresa (EPSEM). El procés que es va seguir queda definit en el treball de doctorat presentat per en Josep Basas i Jaumandreu (2015) sota el títol *“Estudi de biomarcadors lipídics en plantes de la conca mediterrània i les seves implicacions geoquímiques en sistemes aquàtics”*.

5.1. Preparació i extracció de la mostra

La mostra fresca de la planta es va pesar inicialment abans de sotmetre-la a un procés d'assecatge per conèixer la diferència de pes de la mostra humida i la mostra resultant un cop finalitzat aquest procés, i així no alterar la concentració dels compostos a l'hora de quantificar-los.

Com a recipient de la mostra es va fer servir un vidre de rellotge la massa del qual era exactament de 40,0801 g.

Les dades que es van obtenir són les següents:

- Pes dels teixits previ al procés d'assecatge → 19,5334 g
- Pes dels teixits i el vidre de rellotge → 59,6135 g
- Pes dels teixits assecats i el vidre de rellotge → 41,2098 g
- Pes dels teixits assecats → 1,1297 g

Aquesta operació d'assecamment es va realitzar en una estufa calefactora a una temperatura de 105°C, per tal de permetre una evaporació controlada de l'aigua dels teixits de les plantes es van fer varies lectures del pes en els dies posteriors. El procés es va donar per finalitzat quan aquest era constant.

Per altra banda es va agafar una altra mostra fresca, es va pesar i tot seguit es va triturar mitjançant un morter i una mà de morter, ambdós de vidre, prèviament rentats amb dissolvents orgànics i amb l'ajut de sorra neta per a

anàlisi per tal de facilitar-ne la disgregació degut a les seves característiques abrasives.

- Pes dels teixits frescs per l'extracció → 15,02 g

Per realitzar la extracció es van utilitzar 300 mL d'una mescla de dos dissolvents constituïda per 7 parts de hexà i 3 parts de diclorometà (7:3 v/v). L'extracció líquid/sòlid en continu en un aparell del tipus Söxhlet es va realitzar de manera que el cos de l'extractor i el matràs de destil·lació de l'aparell foren embolcallats amb paper d'alumini per tal d'evitar tant com fos possible la fotooxidació dels compostos.

La mostra es va introduir en l'interior del didal d'extracció de cel·lulosa Albet[®] i va ser protegida amb llana de vidre, prèviament rentada amb dissolvent orgànic, per tal d'evitar, durant el procés d'extracció, la sortida de part de la matriu dels teixits de les plantes o dels sediments. L'extracció es va desenvolupar en una bateria de calefactores i de manera que es podia acoblar a un aparell refrigerador de l'aigua que es feia circular a través del refrigerant de l'aparell extractor per tal d'estalviar aigua.

Un cop finalitzada la separació extractiva dels lípids es va rotoevaporar l'extracte i es va traspasar a un vial de vidre de 7 mL amb tap de tefló per tal de realitzar-hi la resta d'operacions analítiques (evaporació sota corrent de gas nitrogen (N₂), derivatització).

Evaporació sota corrent de gas nitrogen

L'extracte fou parcialment evaporat en la mescla de dissolvents que s'havien utilitzat per a realitzar-ne l'extracció L/S, en un vial de vidre de 8 ml de capacitat, situant-lo sota un corrent de gas nitrogen (N₂).

Derivatització

Els compostos químics continguts en l'extracte lipídic obtingut que disposessin dels grups funcionals hidroxil i carboxílic van ser derivatitzats utilitzant entre 200 i 300 µl de reactiu N,O-bis(trimetrilsilil)trifluoroacetamida (C₈H₁₈F₃NOSi₂; P.M. 257,41 g·mol⁻¹) escalfant en l'estufa el vial de vidre que contenia la mostra a una temperatura de 70°C durant 1 hora.

5.2. Cromatografia de gasos – Espectrometria de masses

La cromatografia de gasos acoblada a l'espectrometria de masses es va dur a terme en un aparell Fisons MD800. Les dades s'adquirien escombrant les masses entre m/z 50 – 650.



Figura 4. Aparell Fisons MD800.

Les temperatures de l'espectròmetre de masses van ser: la de la font de ions, de 200°C, i la de l'analitzador, de 230°C.

La columna capil·lar utilitzada va ser la DB-5MS (J&W Scientific) de 30 m de longitud, 0,32 mm de diàmetre i 0,25 µm de gruix del polímer que constitueix la fase estacionària. Es tracta d'una columna no polar.

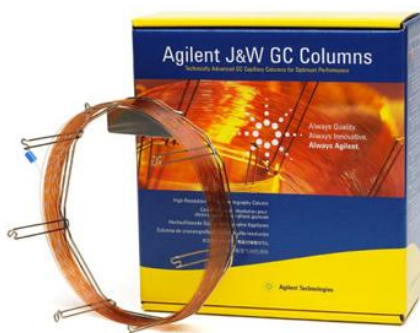


Figura 5. Columna capil·lar DB-5MS.

La temperatura del forn es va programar de 40 a 300°C, La rampa de temperatura aplicada va ser la següent: 1 minut a la temperatura inicial de 40°C (temperatura inicial del forn) amb un increment de 20°C/min fins a 230°C, 10 min a 230°C, i llavors un increment de 2°C/min fins a la temperatura final de 300°C, i 20 min a aquesta temperatura final. Com a gas portador es va utilitzar l'heli i la temperatura de l'injector era de 275°C. La mesura fou feta en mode *full scan* i l'energia de ionització dels analits prèviament separats fou de 70 eV.

5.3. Identificació dels compostos

Per identificar els compostos que conté la mostra, una vegada separats cromatogràficament i fragmentats a través de la espectrometria de masses, es van utilitzar diferents tècniques:

- Analitzar l'espectre de masses del compost i comparar-lo amb la literatura científica o la base de dades NIST.
- Comparar el temps de retenció del compost amb el de la literatura.
- Utilitzar Thermo Xcalibur Qual Browser.

El software Xcalibur permet visualitzar i manejar les dades d'espectrometries de masses.

A continuació s'explica el procés seguit per identificar els compostos amb aquest programa.

Quan obrim el programa ens surt a la part superior de la finestra el cromatograma de la mostra sencer i a la inferior l'espectre de masses.

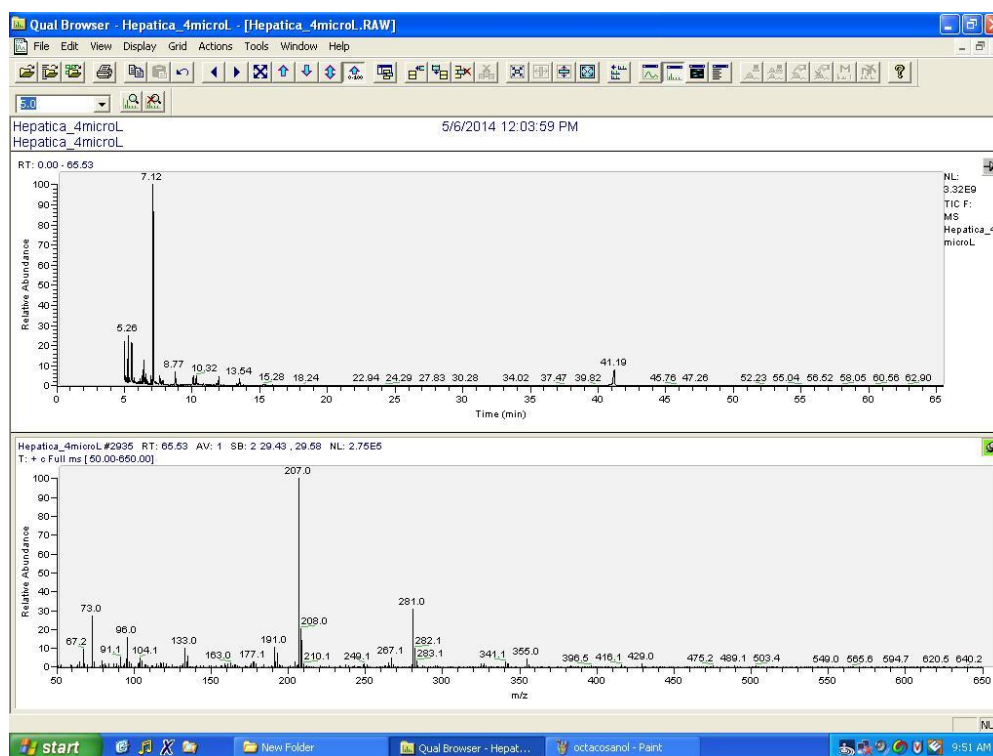


Figura 6. Pantalla inicial Xcalibur Qual Browser.

Per ampliar el cromatograma per tal de facilitar la selecció del pic a identificar, es fa clicant i arrossegant el ratolí de manera que dibuixem una línia sobre la zona que volem veure ampliada, tal i com es mostra a la següent figura:

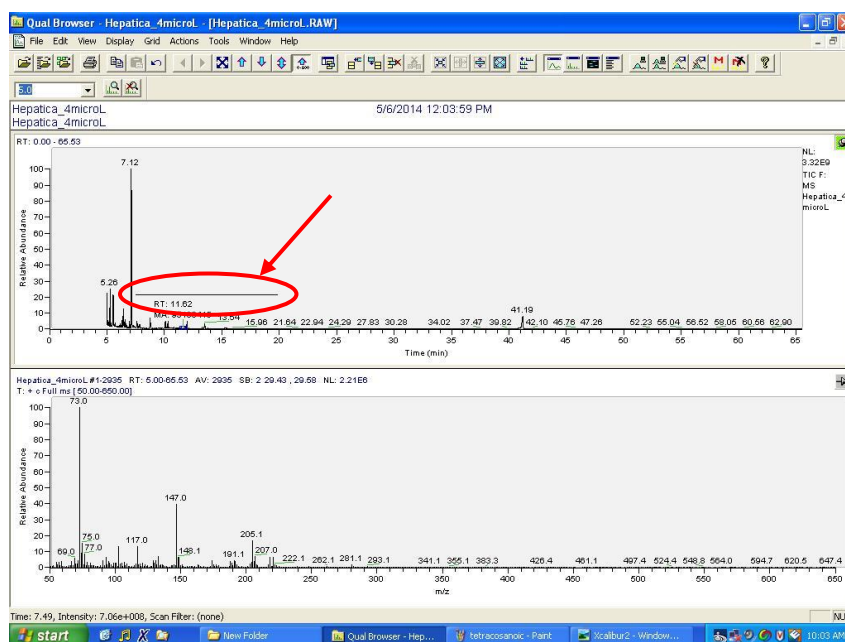


Figura 7. Ampliar cromatograma.

Una vegada ampliada la zona, seleccionem el pic que volem identificar clicant a sobre i automàticament a la finestra inferior ens mostra l'espectre de masses corresponent al pic.

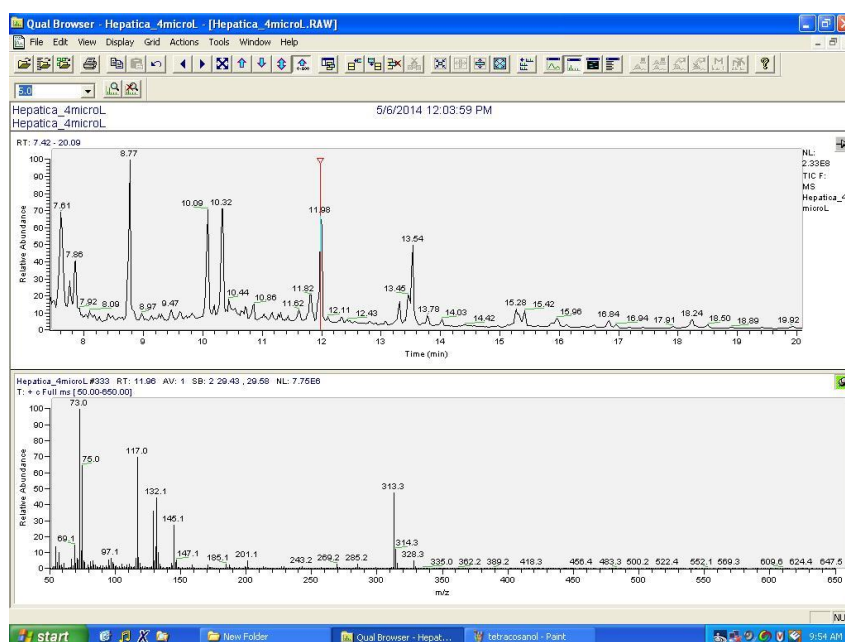


Figura 8. Espectre de masses.

Per veure els possibles compostos s'ha de clicar el botó dret del ratolí i al menú que surt anar a *Library* i *Search*.

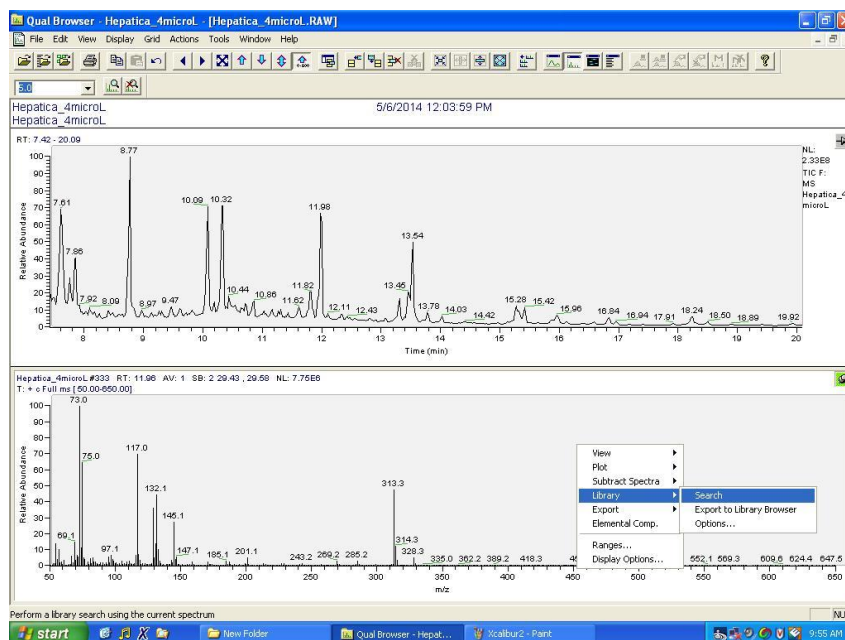


Figura 9. Identificar compostos.

Una vegada realitzat això se'ns obre una finestra nova en la qual trobem un ampli nombre de compostos amb les seves probabilitats de ajustar-se al nostre espectre de masses. En aquesta nova finestra també hi surt el nostre espectre de masses i a la part inferior d'aquest l'espectre del compost seleccionat del llistat per tal de poder realitzar una comparació.

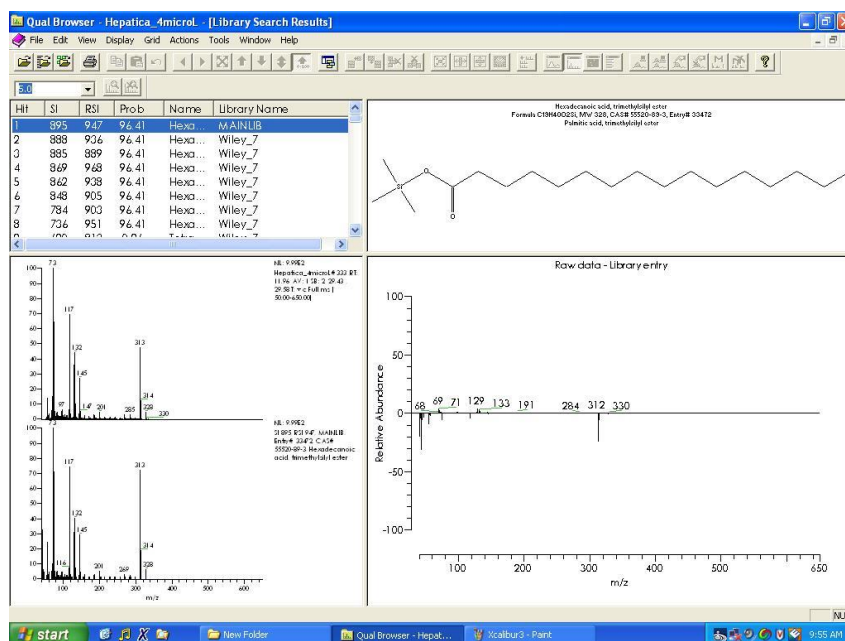


Figura 10. Funció Search.

A vegades depenent del pic pot estar “brut”, és a dir que en l'espectre de masses hi apareixin pics que no corresponen al compost, sinó que al sagnat de la columna, i per tant alteren la identificació d'aquest. Per treure aquesta “brutícia” s'ha de clicar el botó dret del ratolí i anar a *Subtract Spectra* i et dóna la opció d'eliminar d'una banda o de dues (*1 Range* o *2 Ranges*).

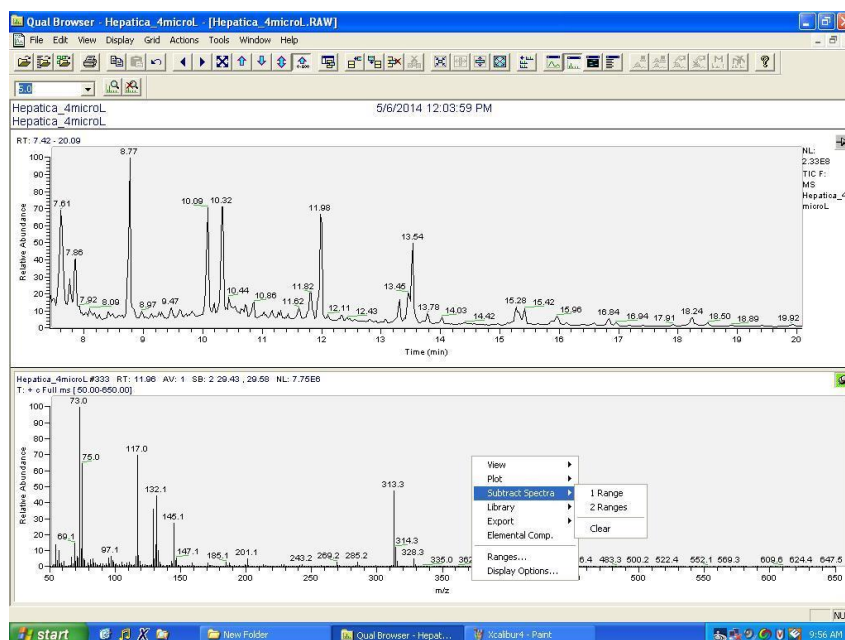


Figura 11. Netejar sagnat de la columna.

Aquest programa també et permet calcular l'àrea de cada pic clicant en la icona marcada en la figura i seleccionant el pic en qüestió.

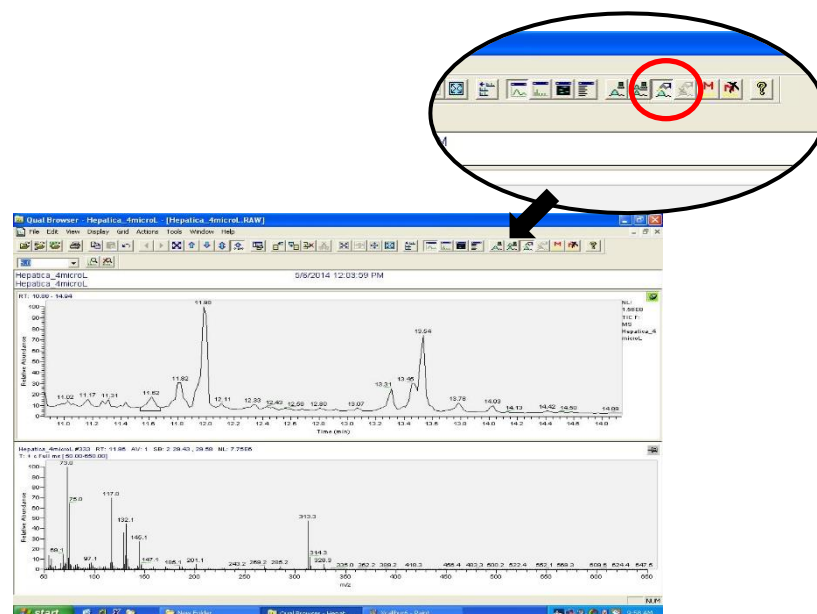


Figura 12. Càlcul àrea.

Una vegada trobada l'àrea perquè et surti el valor d'aquesta s'ha de clicar el botó dret del ratolí i anar a *Display Options*.

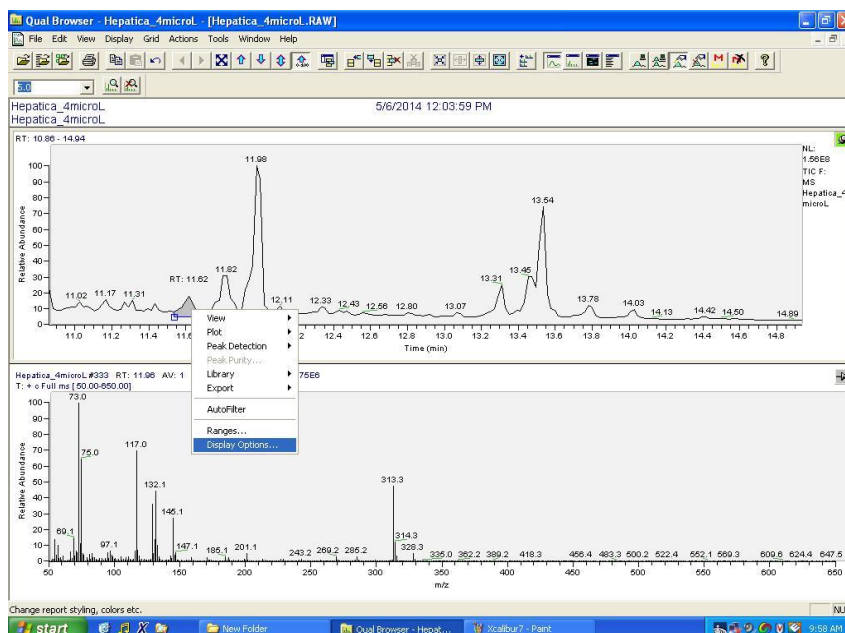


Figura 13. Opcions de visualització.

Al clicar a *Display Options* se'ns obre una finestra nova amb una sèrie d'opcions, si anem a *Label* podem seleccionar quins paràmetres volem que ens surtin en el cromatograma.

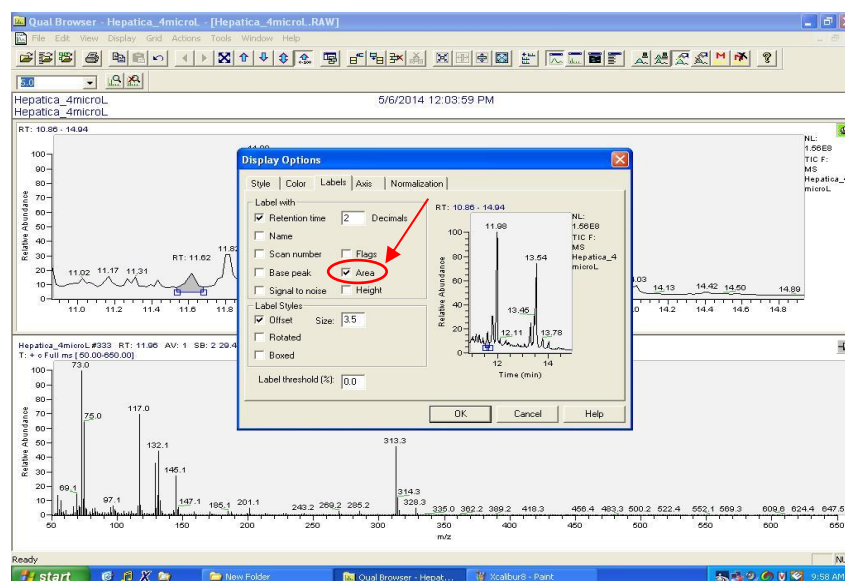


Figura 14. Opcions de rètol.

Dintre d'aquests paràmetres trobem la opció de l'àrea, la seleccionem i ja ens dóna el valor.

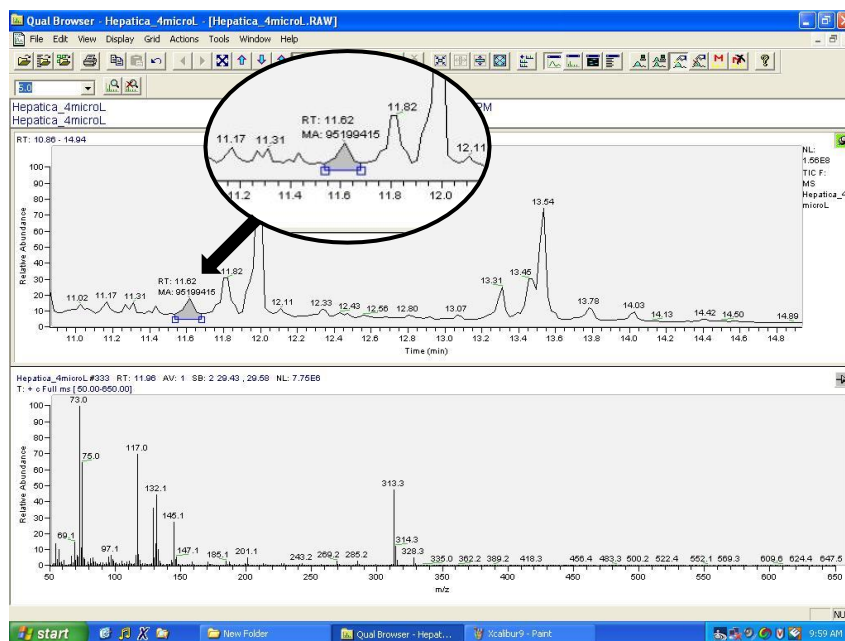


Figura 15. Valor de l'àrea.

En cas d'equivocar-nos a l'hora de seleccionar l'àrea del nostre pic es pot eliminar clicant al botó del costat de la funció de calcular l'àrea que es mostra a la Figura 12. Càlcul àrea. Figura 12 i a continuació clicant a sobre de l'àrea que es vol eliminar.

6. Resultats i discussió

Un cop tractada la mostra i analitzada els cromatogrames obtinguts van ser els que es mostren en les següents figures:

Cromatogrames dels compostos

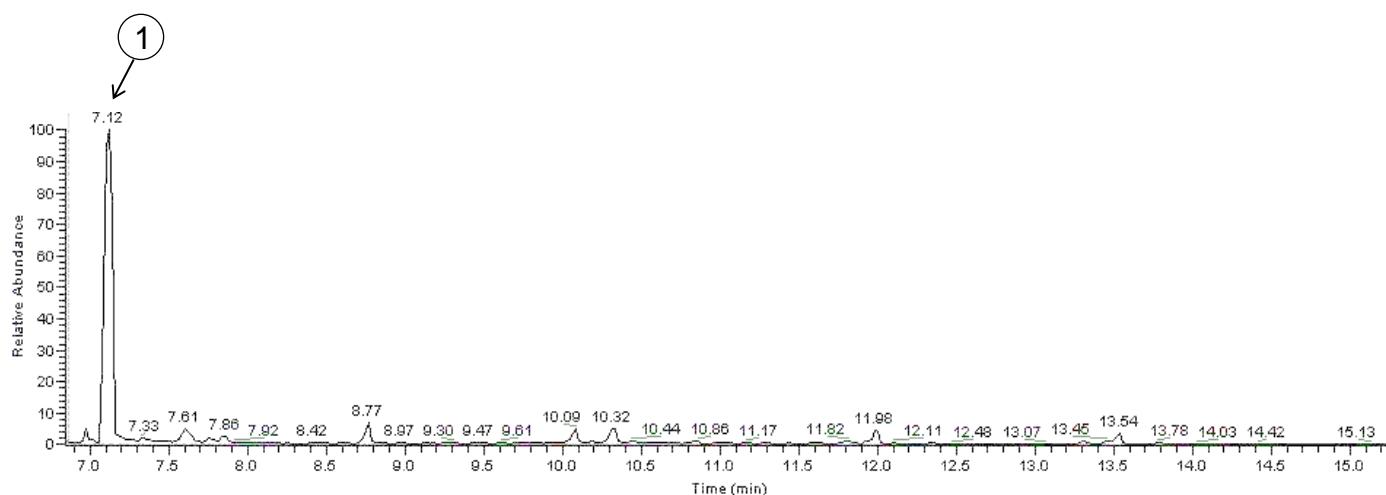


Figura 16. Cromatograma 1.

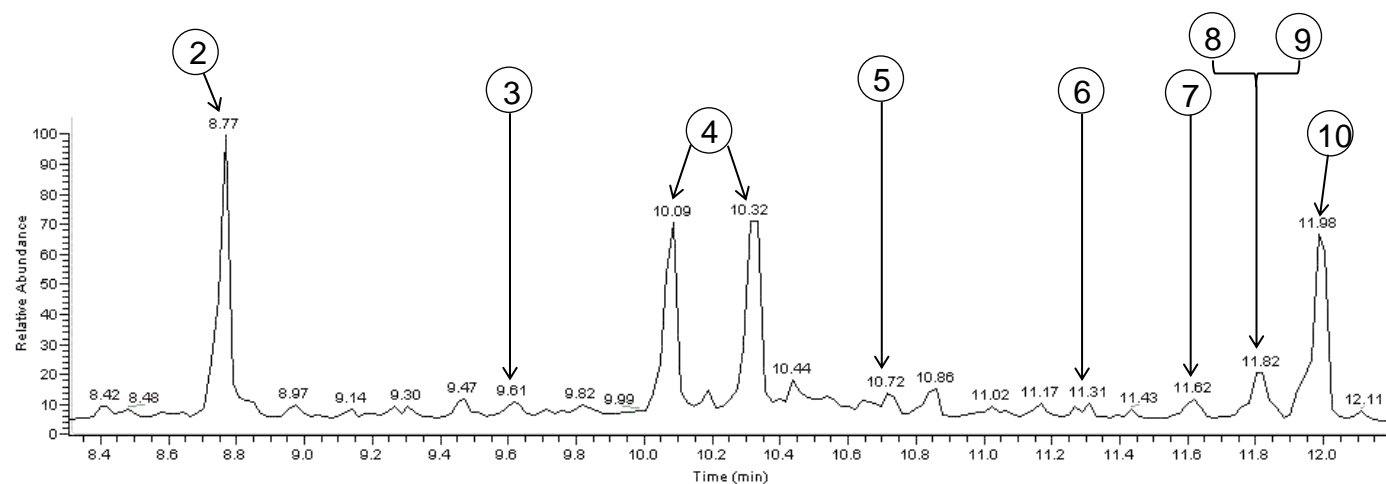


Figura 17. Cromatograma 2.

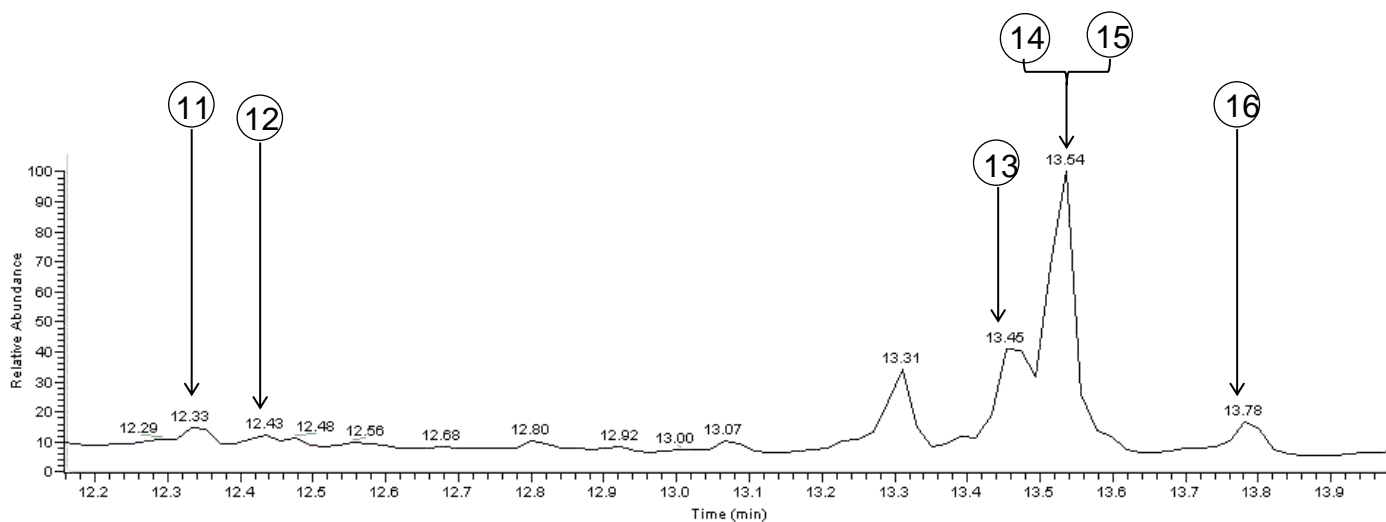


Figura 20. Cromatograma 3.

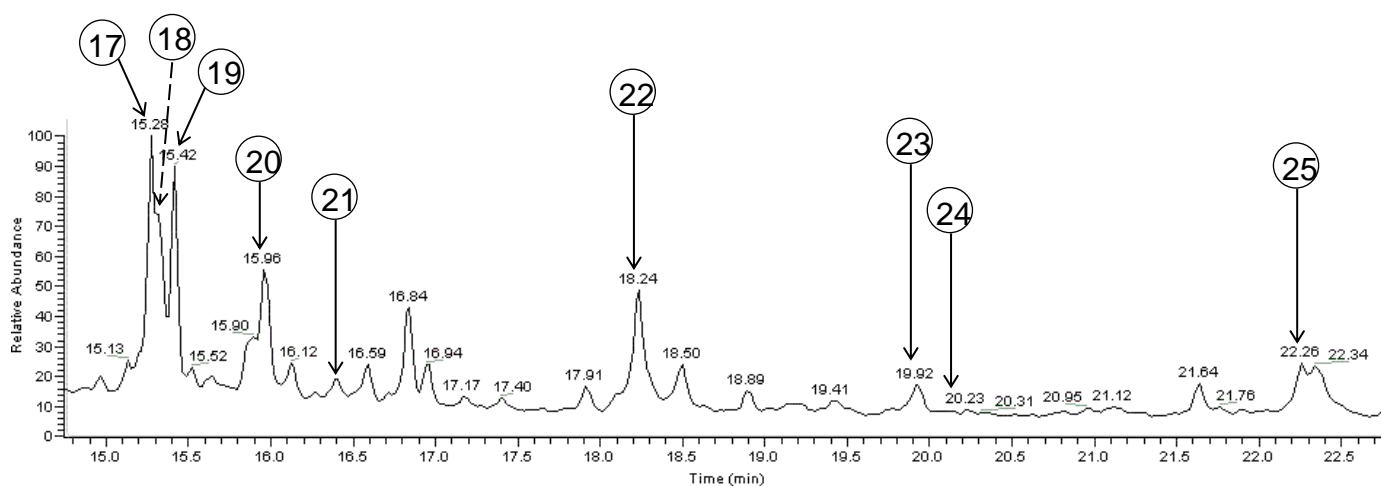


Figura 19. Cromatograma 4.

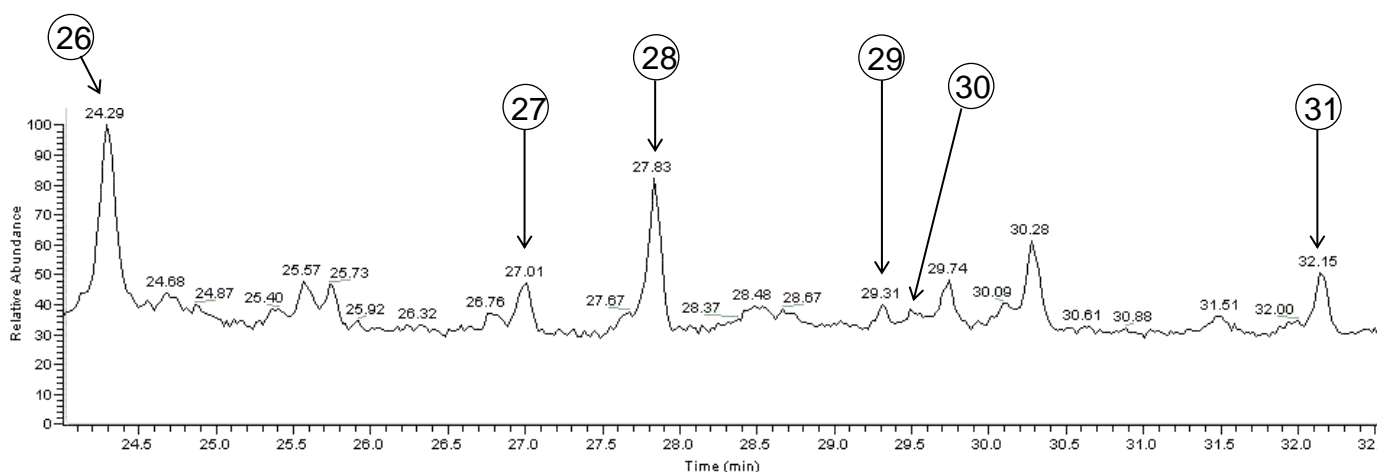


Figura 18. Cromatograma 5.

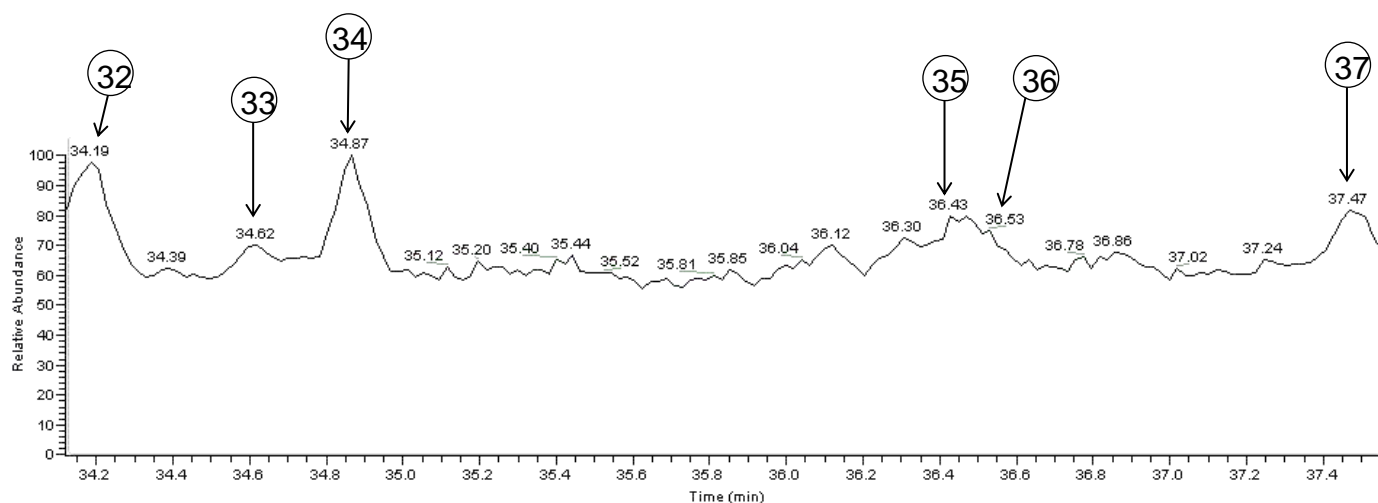


Figura 21. Cromatograma 6.

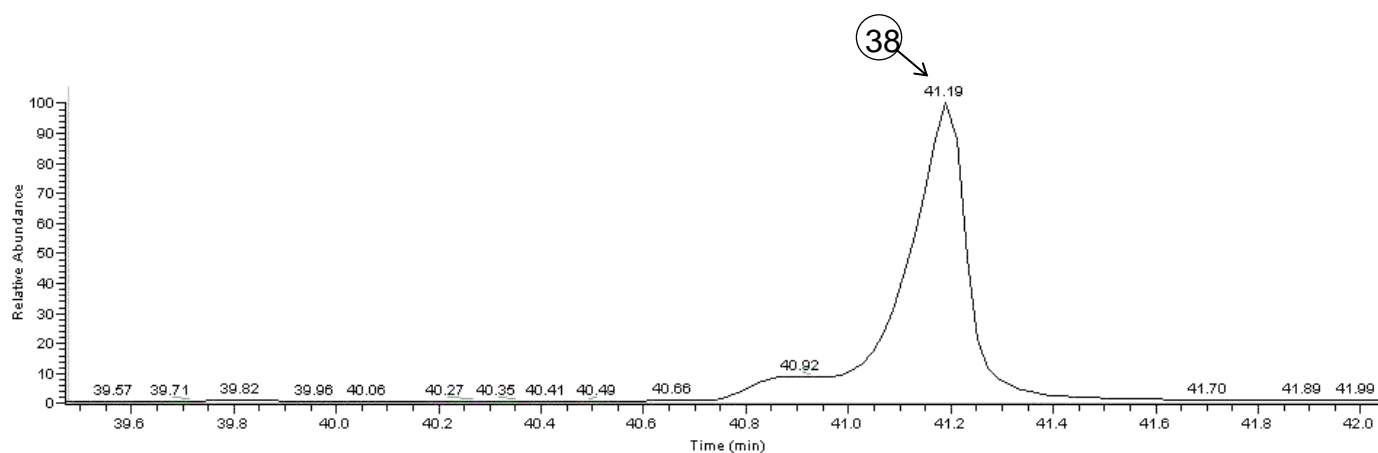


Figura 22. Cromatograma 7.

A continuació es mostra una taula resum dels compostos dels cromatogrames ordenats per temps de retenció:

Taula dels compostos trobats

Compostos	IR
Glicerol (1)	7.12
Sesquiterpè sense identificar (2)	8.77
Àcid dodecanoic (3)	9.61
Derivats de l'elemene (4)	10.09
	10.32
Àcid tetradecanoic (5)	10.72
Àcid pentadecanoic (6)	11.31

Compostos	IR
Derivats del 2 β -hidroxi-9-oxoverrucosa (7)	11.62
Àcid 9-hexadecenoic (8)	11.82
Àcid 7,10,13-hexadecatrienoic (9)	
Àcid palmític (10)	11.98
Oleanitril (11)	12.33
Kaurene (12)	12.43
Àcid linoleic (13)	13.45
Àcid linolènic (14)	13.54
Àcid oleic (15)	
Àcid esteàric (16)	13.78
Oleamida (sense sililar) (17)	15.28
Àcid araquidònic (18)	15.32
Àcid eicosapentaenoic (19)	15.42
Oleamida (sililada) (20)	15.96
Àcid araquídic (21)	16.41
Docosanol (22)	18.24
Àcid docosanoic (23)	19.92
Tricosanol (24)	20.13
Tetracosanol (25)	22.26
Àcid tetracosanoic (26)	24.33
Hexacosanol (27)	27.01
Àcid 22-hidroxidocosanoic (28)	27.83
Àcid hexacosanoic (29)	29.33
Heptacosanol (30)	29.49
Octacosanol (31)	32.15
Campesterol (32)	34.21
Àcid octacosanoic (33)	34.62
Estigmasterol (34)	34.85
Sitoesterol (35)	36.45
1-monoacilglicerol (36)	36.53
Triacontanol (37)	37.49
Friedelan-3-one (38) (Patró intern)	41.19

Taula 3. Compostos trobats a la mostra.

6.1. Càlculs quantificació

Inicialment es va introduir un patró intern de concentració coneguda, per utilitzar-lo de referència a la hora de quantificar cada compost de la mostra analitzada.

El patró intern utilitzat va ser 300µl de friedelan-3-one amb una concentració de 200mg/l.

Una vegada identificats els compostos de la mostra per poder quantificar-los vam necessitar tant l'àrea dels compostos com l'àrea del patró intern per així poder conèixer la concentració dels nostres compostos mitjançant la següent relació:

$$[X] = [\rho_i] \cdot \frac{A_X}{A_{\rho_i}}$$

On:

[X] → Concentració del compost analitzat

[ρ_i] → Concentració de patró intern

A_X → Àrea del compost analitzat

A_{ρ_i} → Àrea del patró intern

Per saber la concentració de patró intern en la mostra seca es van fer servir factors de conversió i estequiometria:

$$\begin{aligned} [\rho_i] &= \frac{300 \mu l \text{ friedelina} \cdot \frac{1 l}{10^6 \mu l} \cdot \frac{200 mg}{l}}{15,02 g \text{ pes humit}} \cdot \frac{19,5334 g \text{ pes humit}}{1,1297 g \text{ pes sec}} \cdot \frac{10^3 g}{1 kg} \\ &= 69,07 ppm \end{aligned}$$

Les àrees es van extreure mitjançant la funció del programa Xcalibur tal i com es mostra a la figura

Compostos	Àrea (u.a)
Glicerol (1)	12362578698
Sesquiterpè sense identificar (2)	462509717
Àcid dodecanoic (3)	39343112
Derivats de l'elemene (4)	432058579
	513058633
Àcid tetradecanoic (5)	48912137
Àcid pentadecanoic (6)	22126221
Derivats del 2 β -hidroxi-9-oxoverrucosa (7)	53798586
Àcid 9-hexadecenoic (8)	131929657
Àcid 7,10,13-hexadecatrienoic (9)	
Àcid palmític (10)	472913643
Oleanitril (11)	24873027
Kaurene (12)	16460273
Àcid linoleic (13)	126924031
Àcid linolènic (14)	277848013
Àcid oleic (15)	
Àcid esteàric (16)	26797880
Oleamida (sense sililar) (17)	80545315
Àcid araquidònic (18)	54026059
Àcid eicosapentaenoic (19)	58448502
Oleamida (sililada) (20)	45769656
Àcid araquídic (21)	8802227
Docosanol (22)	51884746
Àcid docosanoic (23)	15214234
Tricosanol (24)	1457050
Tetracosanol (25)	30914050
Àcid tetracosanoic (26)	32520366
Hexacosanol (27)	5692371
Àcid 22-hidroxidocosanoic (28)	16270938
Àcid hexacosanoic (29)	2796012
Heptacosanol (30)	1405526
Octacosanol (31)	12448886
Campesterol (32)	13954773

Compostos	Àrea (u.a)
Àcid octacosanoic (33)	6988419
Estigmasterol (34)	15173184
Sitoesterol (35)	6587809
1-monoacilglicerol (36)	3431712
Triacantanol (37)	9587875
Friedelan-3-one (38)	2364013879

Taula 4. Àrees dels compostos de la mostra.

Aplicant la relació indicada al inici d'aquest apartat es van trobar totes les concentracions dels compostos identificats en la mostra tal i com es mostra a la taula a continuació:

Compostos	Concentració (ppm)
Alcohols	
Glicerol	361,20
Docosanol	1,52
Tricosanol	0,04
Tetracosanol	0,90
Hexacosanol	0,17
Heptacosanol	0,04
Octacosanol	0,36
Triacantanol	0,28
Àcids	
Àcid dodecanoic	1,15
Àcid tetradecanoic	1,43
Àcid pentadecanoic	0,65
Àcid 9-hexadecenoic	3,85
Àcid 7,10,13-hexadecatrienoic	
Àcid palmític	13,82
Àcid linoleic	3,71
Àcid linolènic	8,12
Àcid oleic	
Àcid esteàric	0,78

Compostos	Concentració (ppm)
Àcids	
Àcid araquidònic	1,58
Àcid eicosapentaenoic	1,71
Àcid araquídic	0,26
Àcid docosanoic	0,44
Àcid tetracosanoic	0,95
Àcid hexacosanoic	0,08
Àcid octacosanoic	0,20
Compostos	
Concentració (ppm)	
Terpens	
Sesquiterpè no identificat	13,51
Derivats de l'elemene	12,62
	15,0
Derivat del 2 β -hidroxi-9-oxoverrucosa	1,57
Kaurene	0,48
Fitosterols	
Campesterol	0,41
Estigmasterol	0,44
Sitoesterol	0,19
Altres	
Oleanitril	0,73
Oleamida (sense sililar)	2,35
Oleamida (sililada)	1,34
Àcid 22-hidroxidocosanoic	0,48
1-monoacilglicerol	0,10

Taula 5. Quantificació dels compostos de la mostra.

Si comparem les famílies dels compostos identificats en la mostra amb els compostos dels articles consultats veiem:

Terpens

En la mostra analitzada s'han identificat 5 terpens, 1 sesquiterpè sense identificar, 2 derivats de l'elemene, 1 derivat del 2 β -hidroxi-9-oxoverrucosa i el kaurene.

Els compostos amb temps de retenció 10.09 i 10.32 es creu que són derivats de l'elemene ja que si comparem els seus espectres de masses amb l'espectre de masses de l'elemene són molt similars:

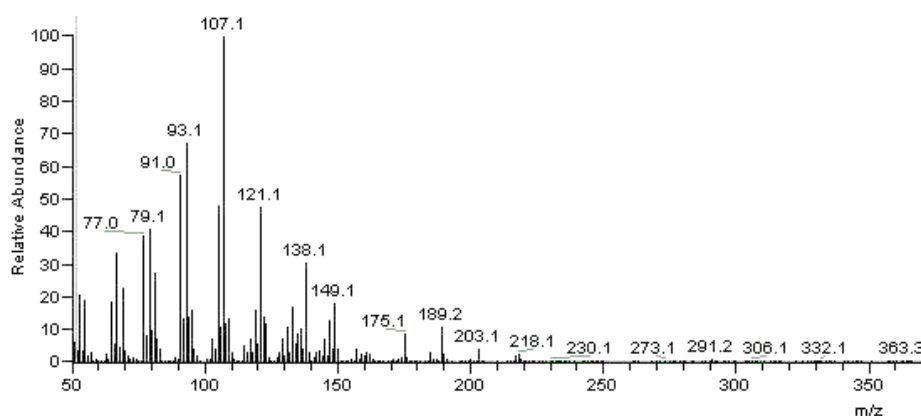


Figura 25. Espectre de masses derivat de l'elemene (10.09).

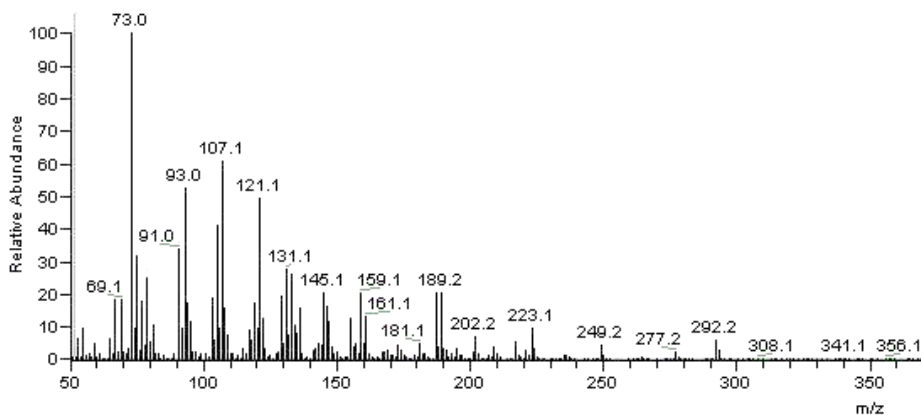


Figura 25. Espectre de masses derivat de l'elemene (10.32).

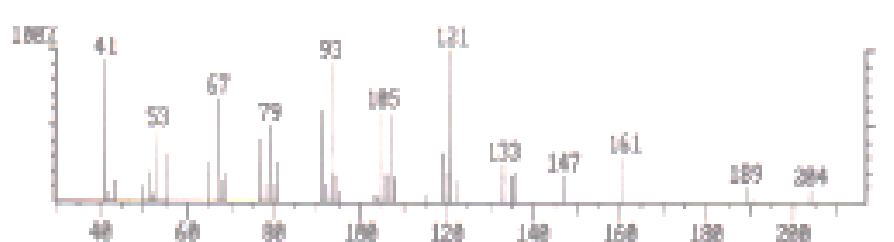


Figura 25.. Espectre de masses de l'elemene.

A part de la similitud en els espectres de masses també hi ha constància de la presència de l'elemene en la *Conocephalum conicum*, la qual cosa aporta més fermesa a la teoria de que poden ser derivats de l'elemene (Referencia, any).

Pel que fa al compost en temps de retenció 11.62 no s'ha pogut identificar de quin es tracta però es creu que es tracta d'un derivat del 2 β -hidroxi-9-oxoverrucosa ja que el compost que més s'ajustava a l'espectre de masses d'aquest era el del 2 β -hidroxi-9-oxoverrucosane. A més a més s'han trobat articles els quals descriuen compostos similars, com per exemple el 2 β ,9 α ,13 β -trihidroxiverrucosane, el 13 β -dihidroxiverrucosane i el 2 β ,13 β -dihidroxiverrucosane, presents en altres hepàtiques (Takaoka, 1982).

El compost en temps de retenció 8.77 no s'ha pogut identificar però s'aproxima a l'estructura d'un sesquiterpè.

Finalment el compost en temps de retenció 12.43 s'ha determinat que es tracta del kaurene per la similitud dels espectres de masses, i a més s'ha pogut confirmar la presència d'aquest en altres hepàtiques (Asakawa,1982).

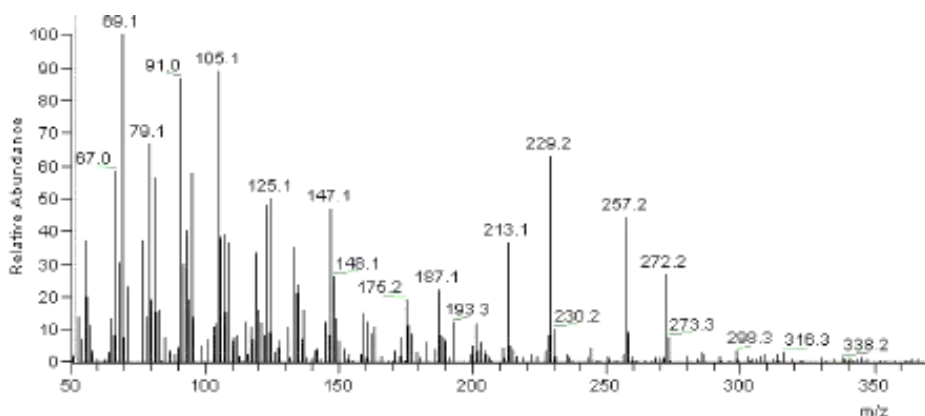


Figura 27. Espectre de masses del kaurene de la mostra.



Figura 27. Espectre de masses del kaurene.

Àcids

En la mostra analitzada s'han trobat 17 àcids, dels quals 10 són àcids saturats i 7 són insaturats.

Els àcids saturats presents en la mostra són:

- Àcid dodecanoic (àcid làuric)
- Àcid tetradecanoic (àcid mirístic)
- Àcid pentadecanoic
- Àcid hexadecanoic (àcid palmític)
- Àcid octadecanoic (àcid esteàric)
- Àcid eicosanoic (àcid araquídic)
- Àcid docosanoic (àcid behènic)
- Àcid tetracosanoic (àcid lignocèric)
- Àcid hexacosanoic (àcid ceròtic)
- Àcid octacosanoic (àcid montànic)

Els àcids insaturats presents en la mostra són:

- Àcid hexadecenoic (àcid palmitoleic)
- Àcid hexadecatrienoic
- Àcid linoleic
- Àcid linolènic
- Àcid oleic
- Àcid eicosapentaenoic

D'aquests àcids saturats i insaturats identificats, s'ha trobat informació que confirma la presència en la *Conocephalum conicum* de tots els àcids, excepte de l'àcid montànic i l'àcid eicosapentaenoic, en l'article *Insecticidal Activity of Fatty Acid-Rich Turkish Bryophyte Extracts Against Sitophilus granarius* (Abay et al. 2013). En aquest article s'analitzava la composició de diferents briòfits realitzant l'extracció amb diferents dissolvents i diferents picades, amb aire sec o amb nitrogen líquid. La nostra mostra va ser extreta a partir de la combinació de dos dissolvents, l'hexà i el diclorometà, per tant agafarem de referència els

resultats de l'experiment realitzat amb hexà i l'experiment realitzat amb diclorometà de l'article mencionat.

Per comparar els valors obtinguts amb els valors de l'article s'ha calculat el percentatge de cada àcid del total de la concentració d'àcids en la mostra:

Àcids	ppm	%
Àcid dodecanoic	1,15	2,97
Àcid tetradecanoic	1,43	3,69
Àcid pentadecanoic	0,65	1,68
Àcid 9-hexadecenoic	3,85	9,94
Àcid 7,10,13-hexadecatrienoic		
Àcid palmític	13,82	35,68
Àcid linoleic	3,71	9,58
Àcid linolènic	8,12	20,97
Àcid oleic		
Àcid esteàric	0,78	2,01
Àcid araquidònic	1,58	4,08
Àcid eicosapentaenoic	1,71	4,42
Àcid araquídic	0,26	0,67
Àcid docosanoic	0,44	1,14
Àcid tetracosanoic	0,95	2,45
Àcid hexacosanoic	0,08	0,21
Àcid octacosanoic	0,2	0,52
TOTAL	38,73	100

Taula 6. Composició dels àcids de la mostra.

D'aquesta manera podrem comparar la proporció de cada compost en la mostra analitzada amb la proporció dels compostos de la literatura.

- Àcid làuric: en la mostra analitzada hi ha un 2,97%, en l'experiment realitzat amb hexà, en cap dels dos tipus de trituració no es va tenir constància de la presència d'aquest en la mostra, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà, en el cas de la trituració amb aire sec va resultar haver-hi un 0,42%.

- Àcid mirístic: en la mostra analitzada hi ha un 3,69%, en l'experiment realitzat amb hexà, en cap dels dos tipus de trituració no es va tenir constància de la presència d'aquest en la mostra, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà tant en el cas de la trituració amb aire sec com amb nitrogen líquid es va observar la presència d'aquest, en un 0,46% i un 0,58% respectivament.
- Àcid pentadecanoic: en la mostra analitzada hi ha un 1,68%, en l'experiment realitzat amb hexà, en cap dels dos tipus de trituració no es va tenir constància de la presència d'aquest en la mostra, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb nitrogen líquid es va detectar un 0,37% d'àcid.
- Àcid palmitoleic: en el nostre cas aquest àcid es troba juntament amb l'àcid hexadecatrienoic i hi ha un 9,94% en total, per tant la comparació amb els valors de l'article no té rellevància.
En l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec, hi ha un 20,82% mentre que en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 5,62%, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 0,52% i en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 14,27%.
- Àcid palmític: en la mostra analitzada hi ha un 35,68%, en l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 39,57% i en la trituració amb nitrogen hi ha un 39,30%, en canvi en l'experiment amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 17,86% i en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 31,54%.
- Àcid linoleic: en la mostra analitzada hi ha un 9,58%, en l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 6,80% i en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 8,56%, en canvi en l'experiment amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec no hi ha constància de la presència de l'àcid i en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 6,73%.

- Àcid linolènic i àcid oleic: en el cas de la nostra mostra aquests dos compostos es troben junts en el mateix pic per tant no es poden quantificar per separat, així que per realitzar la comparació amb els valors dels articles farem la suma d'aquests.

En la mostra analitzada hi ha un 20,97%, en l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 8,96% i en el de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 22,92%, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec no hi ha constància de la presència d'aquest i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 25,4%.

- Àcid esteàric: en la mostra analitzada hi ha un 2,01%, en l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 10,66% i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 6,52%, en canvi en l'experiment amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 2,44% i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 3,05%.
- Àcid araquidònic: en la mostra analitzada hi ha un 4,08%, en l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec no hi ha constància de la presència d'aquest i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 5,78%, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec no hi ha constància de la presència d'aquest i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 2,87%.
- Àcid eicosapentaenoic: en la mostra analitzada hi ha un 4,42%, en canvi tant en l'experiment realitzat amb hexà com en l'experiment realitzat amb diclorometà, en cap dels dos tipus de picades hi ha constància de la presència d'aquest àcid.

- Àcid araquídric: en la mostra analitzada hi ha un 0,67%, en l'experiment realitzat amb hexà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 5,83% i en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 2,92%, en canvi en el cas de l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 2,46% i en la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 0,89%.
- Àcid docosanoic: en la mostra analitzada hi ha un 1,14%, en l'experiment realitzat amb hexà, en cap dels tipus de trituració hi ha constància de la presència d'aquest, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 23,37% i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 6,56%.
- Àcid tetracosanoic: en la mostra analitzada hi ha un 2,45%, en l'experiment realitzat amb hexà, en cap dels tipus de trituració hi ha constància de la presència d'aquest, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 41,27% i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid hi ha un 5%.
- Àcid hexacosanoic: en la mostra analitzada hi ha un 0,21%, en l'experiment realitzat amb hexà, en cap dels tipus de trituració hi ha constància de la presència d'aquest, en canvi en l'experiment realitzat amb diclorometà en el cas de la trituració amb aire sec hi ha un 5,74% i en el cas de la trituració amb nitrogen líquid no hi ha constància de la presència de l'àcid.
- Àcid octacosanoic: en la mostra analitzada hi ha un 0,52%, en canvi tant en l'experiment realitzat amb hexà com en l'experiment realitzat amb diclorometà, en cap dels dos tipus de picades hi ha constància de la presència d'aquest àcid.

Alcohols

En la mostra analitzada s'han trobat els 8 alcohols següents:

- Glicerol
- Docosanol
- Tricosanol
- Tetracosanol
- Hexacosanol
- Heptacosanol
- Octacosanol
- Triacotanol

En el cas de la família dels alcohols consultant la literatura de lliure coneixement no s'ha trobat cap article on es confirmés la presència d'aquests en la *Conocephalum conicum*.

Per tal de garantir una correcta identificació d'aquests compostos a continuació s'adjunten els espectres de masses obtinguts en la mostra comparant-los amb els espectres dels alcohols.

- Glicerol

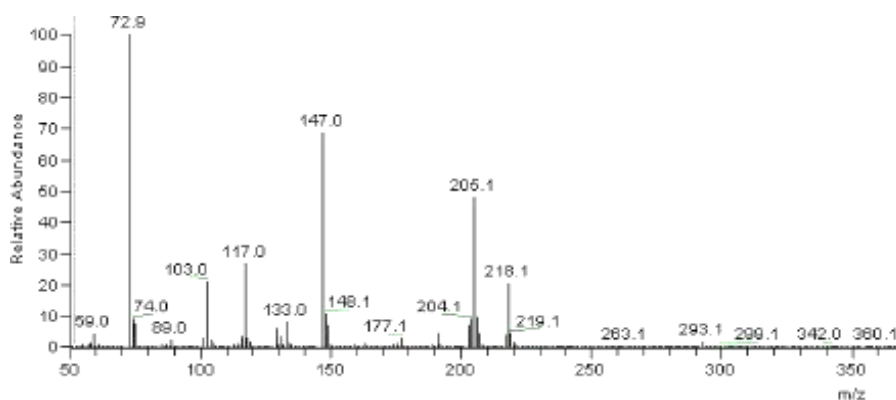


Figura 28. Cromatograma del glicerol de la mostra

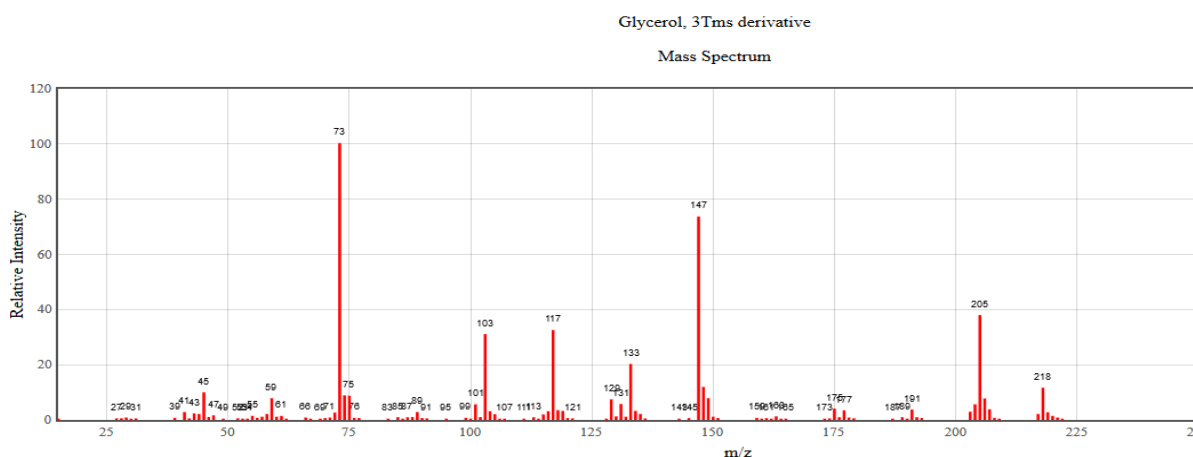


Figura 29. Cromatograma glicerol de la NIST.

- Docosanol

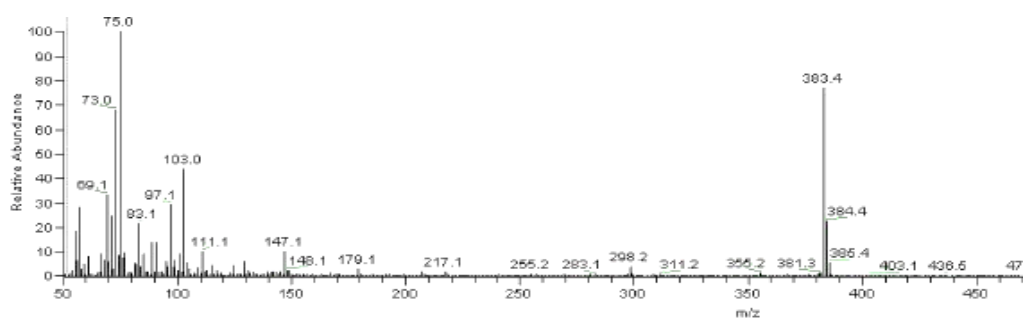


Figura 30. Espectre de masses del docosanol de la mostra.

No s'ha pogut trobar l'espectre de masses original del docosanol, però si ens fixem en l'espectre del tetracosanol original de la Figura 34, podem observar que són iguals. L'únic que varia és el fragment M^{-15} ja que el del tetracosanol és 411 i el del docosanol és 411 menys 28, és a dir 383, aquests 28 corresponen als CH_2 de diferencia entre l'alcohol de 24C i l'alcohol de 22C.

- Tricosanol

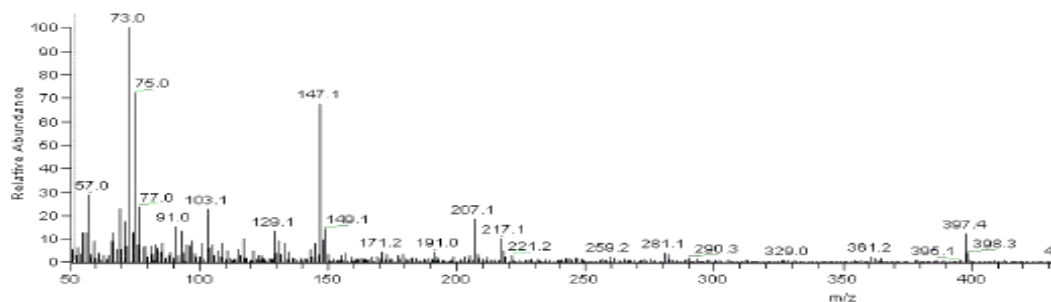


Figura 31. Espectre de masses del tricosanol de la mostra.

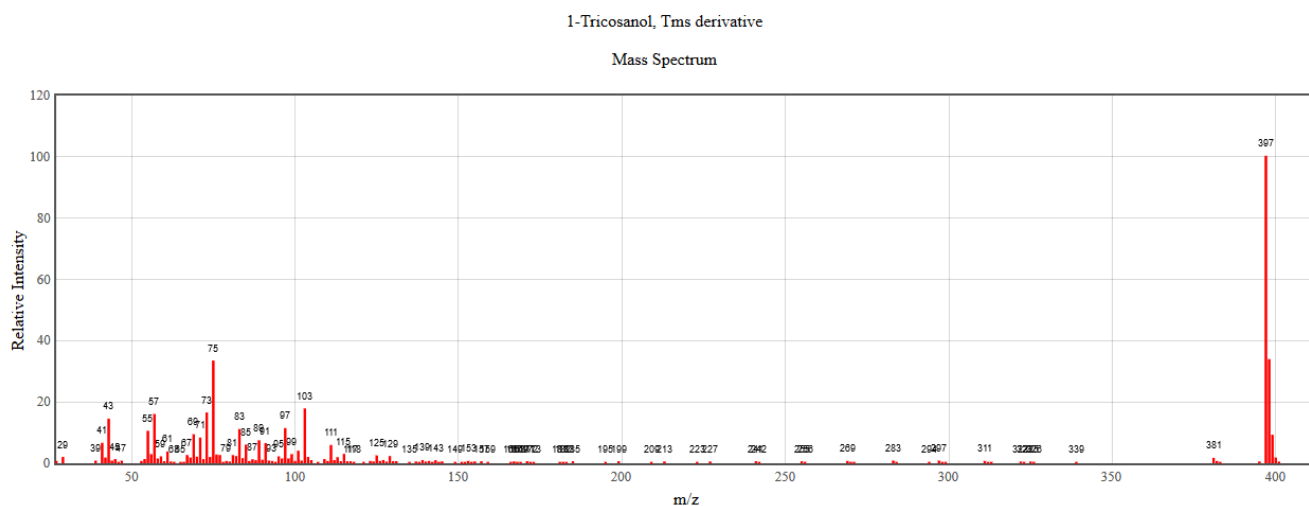


Figura 32. Espectre de masses del tricosanol.

- Tetracosanol

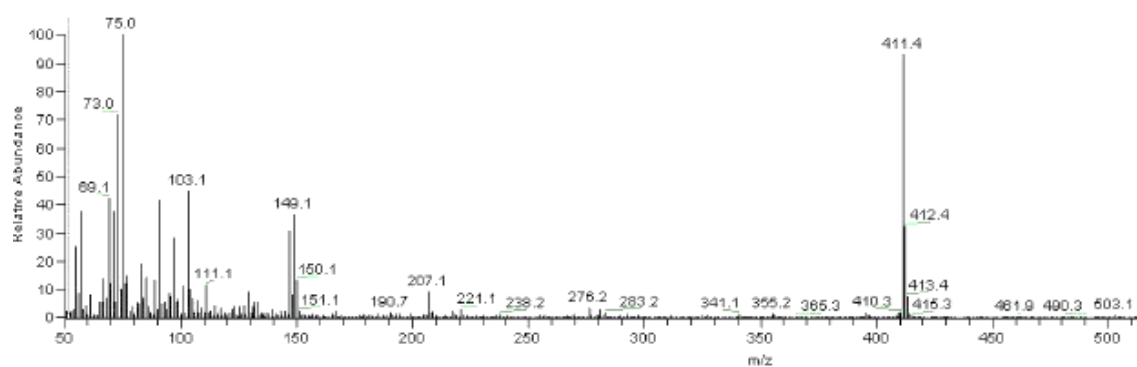


Figura 34. Espectre de masses del tetracosanol de la mostra.

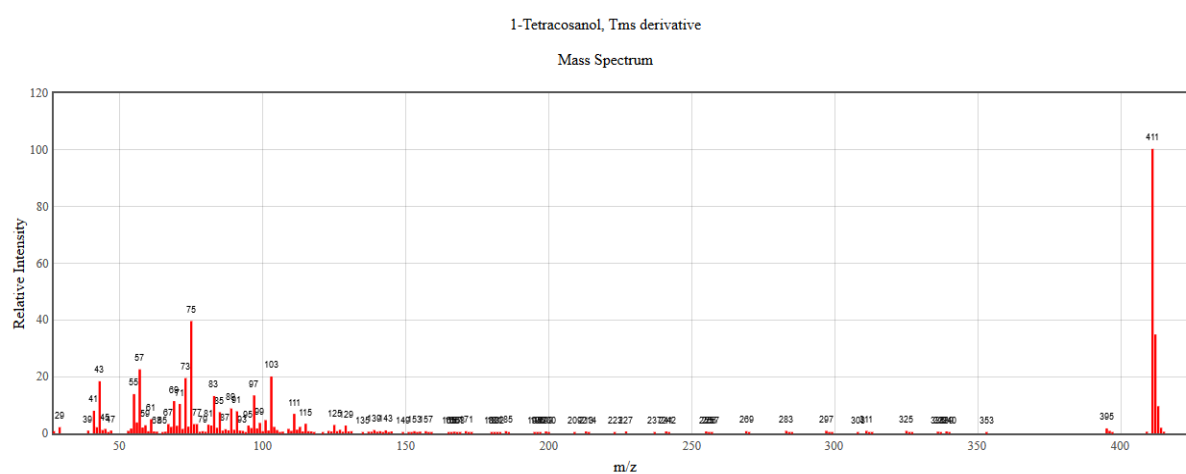


Figura 33. Espectre de masses del tetracosanol.

- Hexacosanol

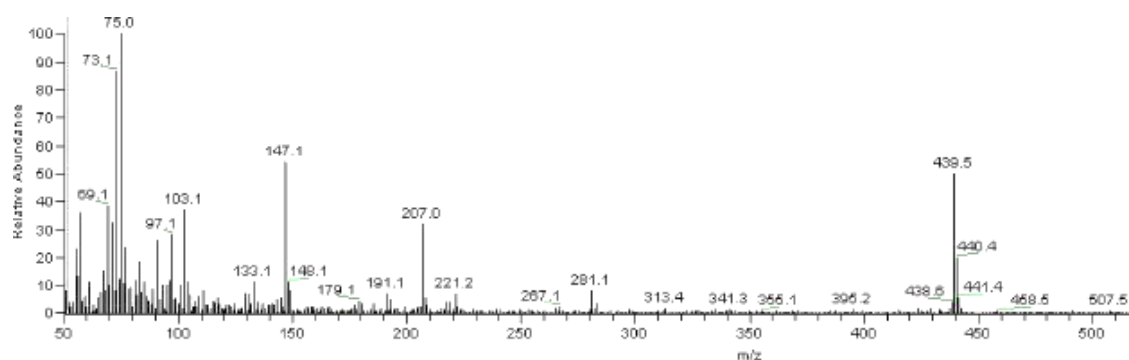


Figura 35. Espectre de masses de l'hexacosanol de la mostra.

En el cas de l'hexacosanol tampoc s'ha trobat l'espectre de masses original. Si el comparem amb l'espectre del tetracosanol de la Figura 34, observem que tenen la mateixa estructura lúnica que en el tetracosanol l'últim fragment, el corresponent al M^{15} és 411 i en canvi en el cas del hexacosanol és 439. Aquests 28 corresponen als CH_2 de diferència entre l'alcohol de 24C i el de 26C.

- Heptacosanol

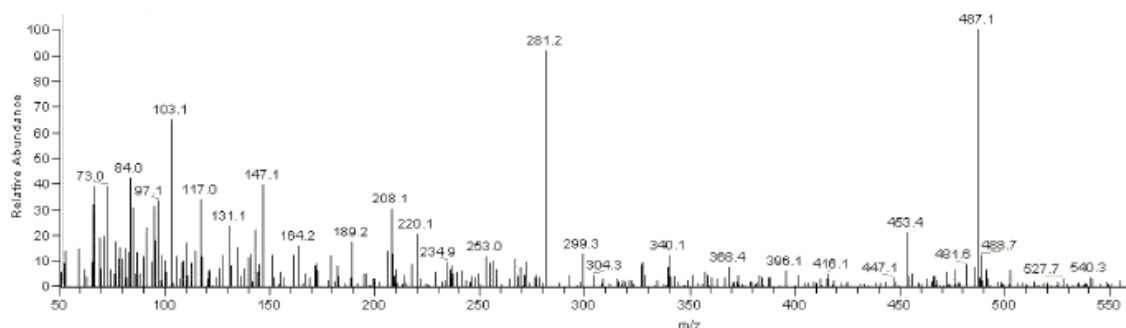


Figura 37. Espectre de masses de l'heptacosanol de la mostra.

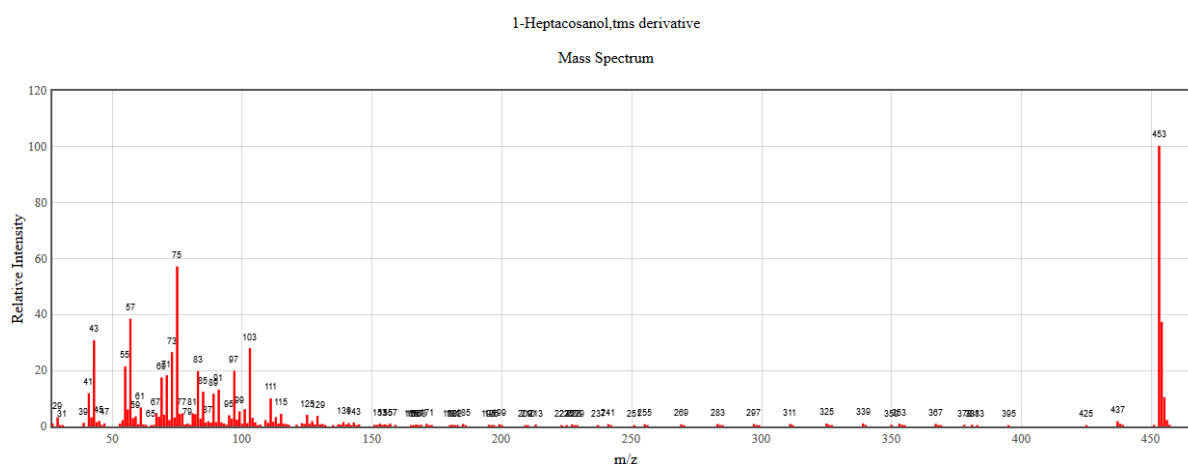


Figura 36. Espectre de masses de l'heptacosanol.

- Octacosanol

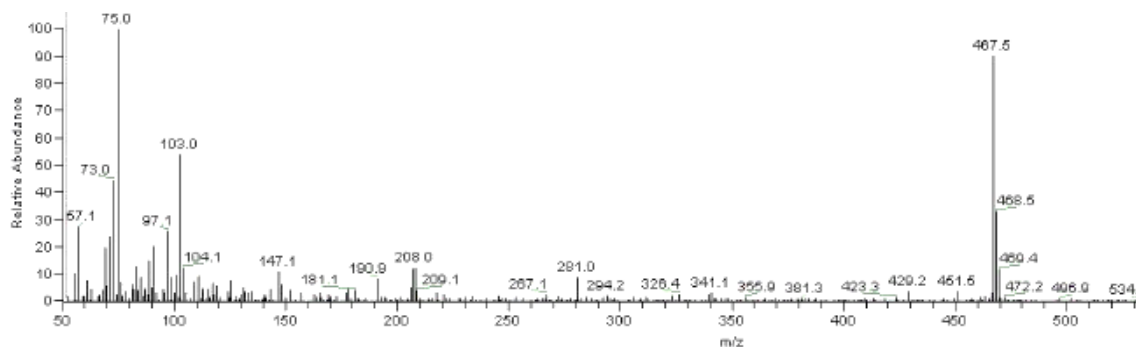


Figura 38. Espectre de masses de l'octacosanol de la mostra.

No s'ha pogut trobar l'espectre original de l'octacosanol, però seguint el procés comparatiu realitzat amb el docosanol i l'hexacosanol, si el comparem amb l'espectre del tetracosanol observem que tenen la mateixa estructura i que l'únic que varia es l'últim pic, el corresponen al M^{-15} , que té un valor de 467 i el del tetracosanol un valor de 411. Aquesta diferència correspon als CH_2 que hi ha més a l'alcohol de 28C.

- Triacontanol

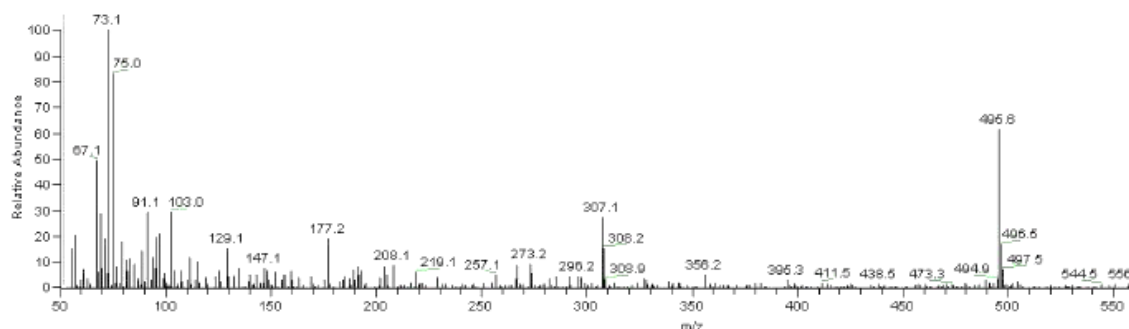


Figura 39. Espectre de masses del triacontanol de la mostra.

Tampoc s'ha trobat l'espectre de masses del triacontanol però si ens fixem en l'espectre de masses del tetracosanol veiem que tenen la mateixa estructura, però l'últim pic té un valor més elevat degut als CH_2 de diferència entre l'alcohol de 24C i el de 30C.

Fitosterols

En la mostra analitzada s'han trobat els 3 fitosterols següents:

- Campesterol
- Estigmasterol
- Sitosterol

Com en el cas de la família dels alcohols consultant la literatura de lliure coneixement no s'ha trobat cap article on es confirmés la presència d'aquests fitosterols en la *Conocephalum conicum*.

Per tal de garantir una correcta identificació d'aquests compostos a continuació s'adjunten els espectres de masses obtinguts en la mostra comparant-los amb els espectres dels fitosterols.

- Campesterol

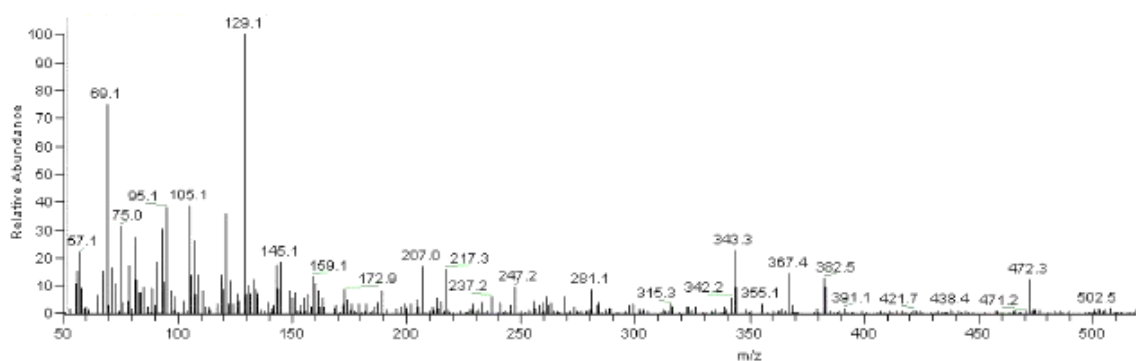


Figura 40. Espectre de masses del campesterol de la mostra.

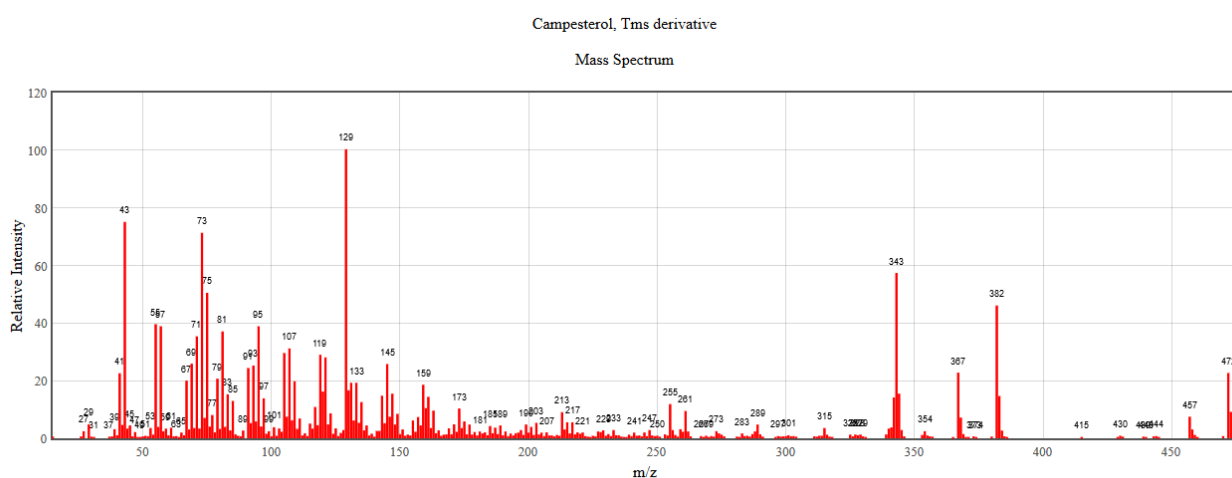


Figura 41. Espectre de masses del campesterol.

- Estigmasterol

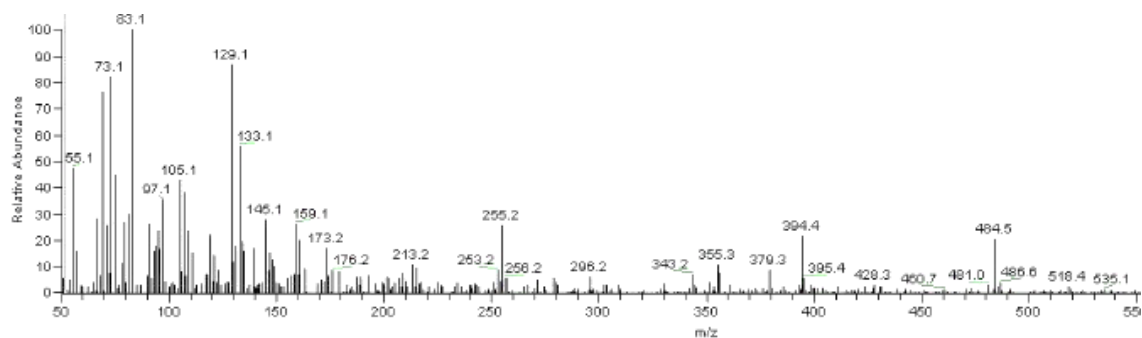


Figura 42. Espectre de masses de l'estigmasterol de la mostra.

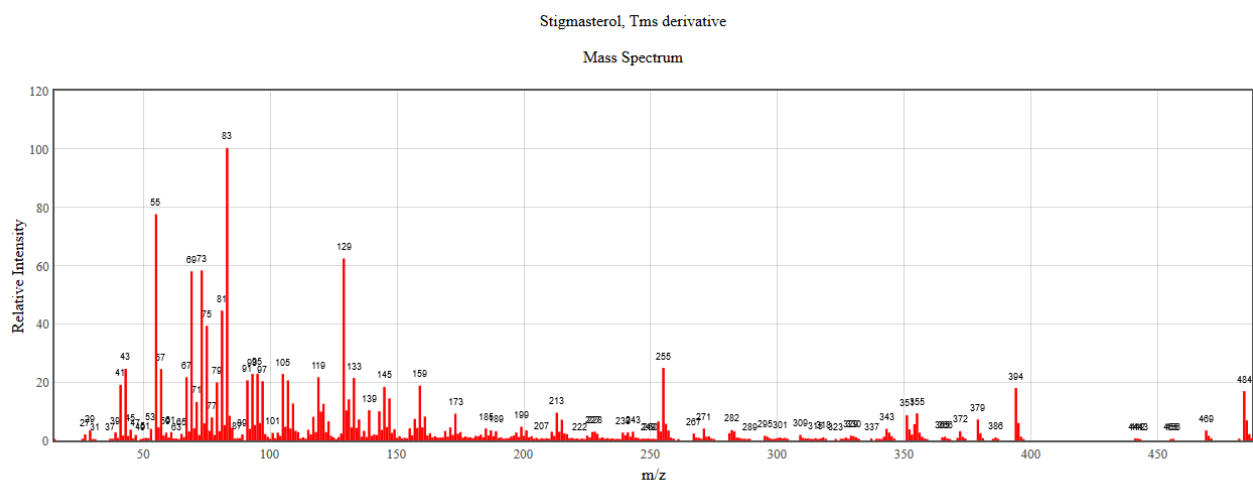


Figura 43. Espectre de masses de l'estigmasterol.

- Sitoesterol

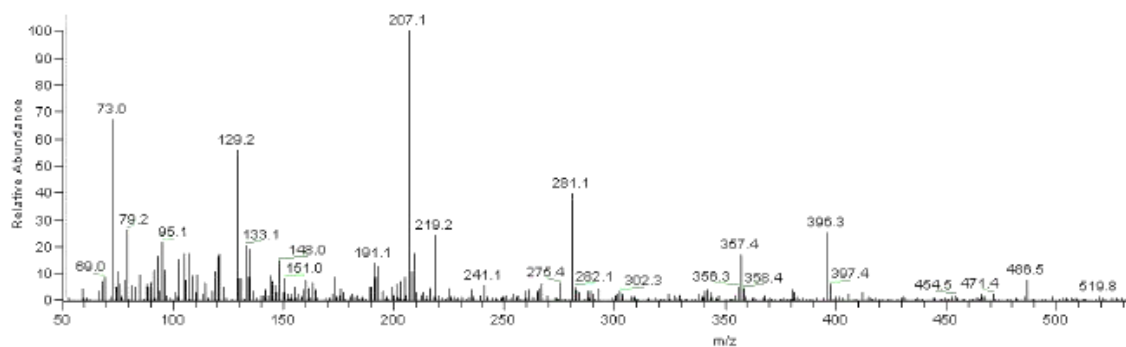


Figura 44. Espectre de masses del sitosterol de la mostra.

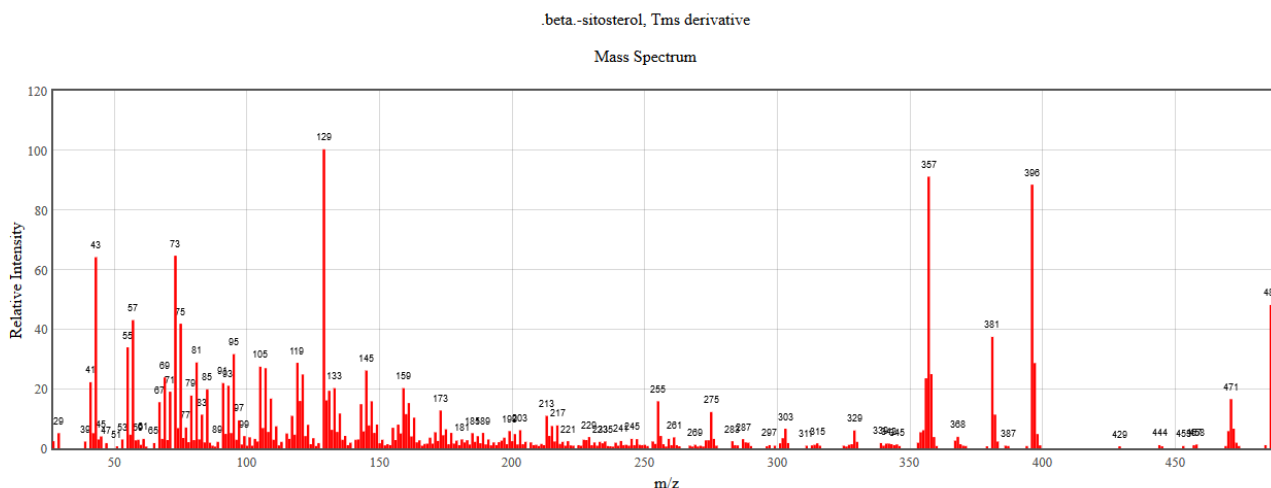


Figura 45. Espectre de masses del sitosterol.

Altres

En la mostra analitzada s'han trobat els 4 compostos següents, els quals pertanyen a altres famílies:

- Oleamida
- Oleanitril
- Àcid 22-hidroxidocosanoic
- 1-monoacilglicerol

Aquests compostos no han estat descrits en cap article de la literatura de lliure coneixement consultada.

Per tal de garantir una correcta identificació d'aquests compostos a continuació s'adjunten els espectres de masses obtinguts en la mostra comparant-los amb els espectres d'aquests compostos.

- Oleamida

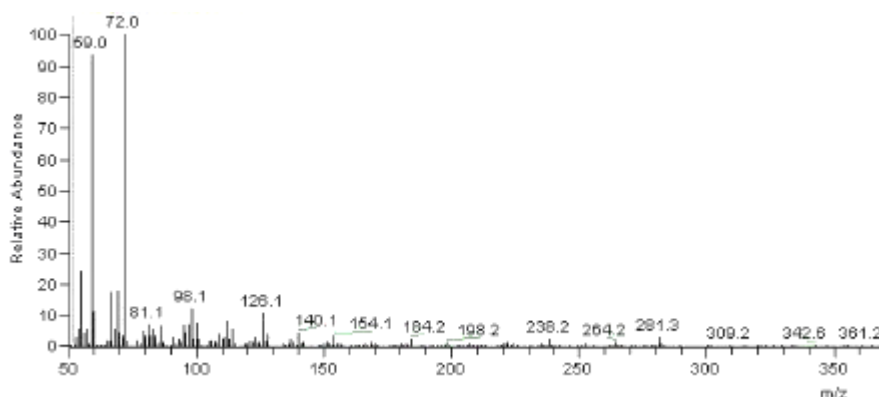


Figura 46. Espectre de masses de la oleanamida de la mostra.

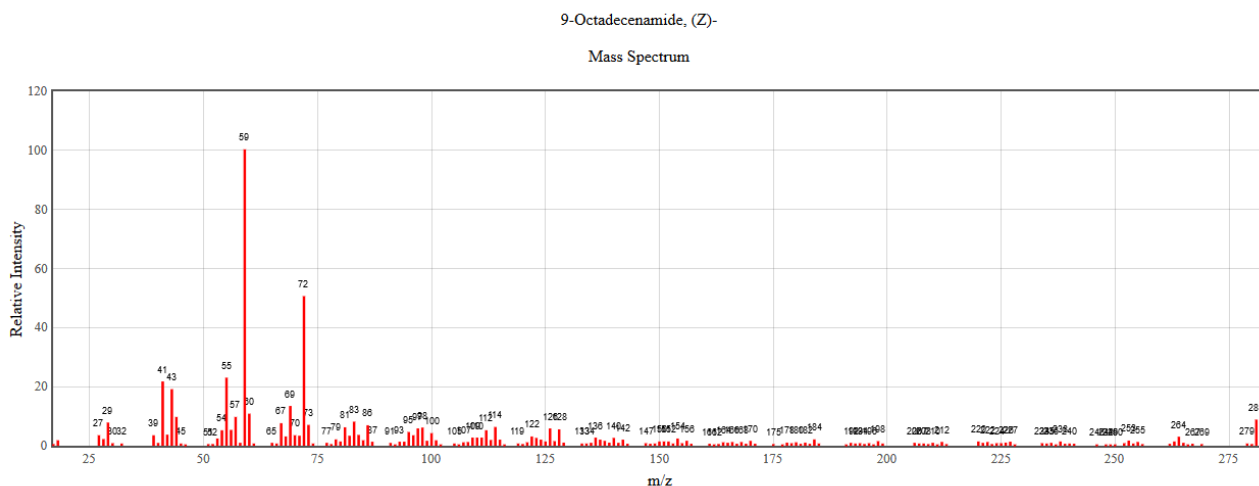


Figura 47. Espectre de masses de la oleamida.

- Oleanitril

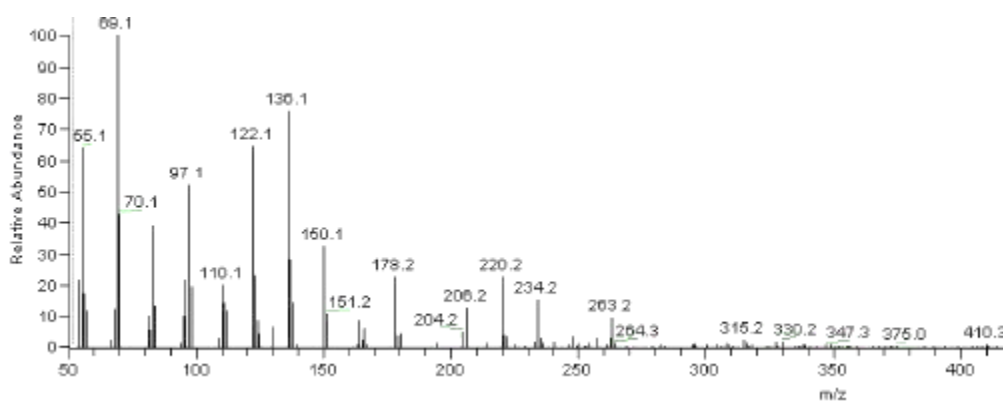


Figura 48. Espectre de masses de l'oleonitril de la mostra.

No s'ha pogut trobar l'espectre de masses de l'oleonitril però si tenim en compte que és com la oleamida però perdent una molècula d'aigua, per tant seria com l'espectre de la oleamida però amb el pic $M-15$ amb un valor de 263.

- Àcid 22-hidroxidocosanoic

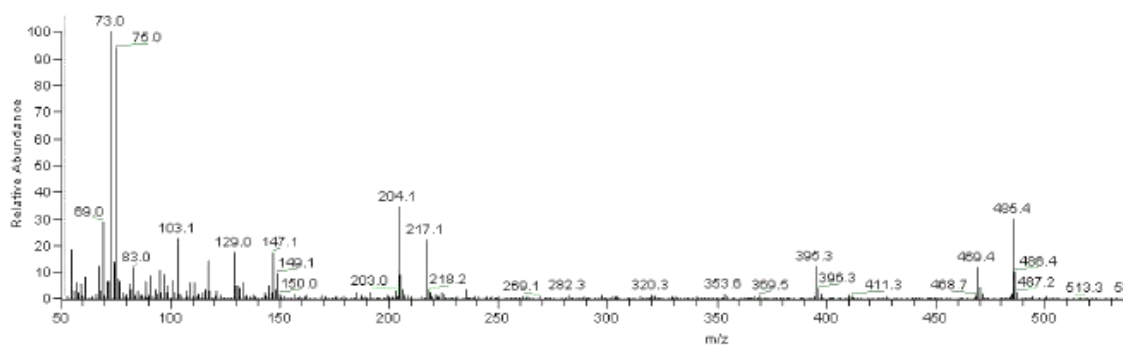


Figura 49. Espectre de masses de l'àcid 22-hidroxidocosanoic de la mostra.

No s'ha trobat l'espectre de masses però en canvi si que hi havia constància de la presència del 2-hidroxidocosanoic en la *Conocephalum conicum* (Kremer 1976).

- 1-monoacilglicerol

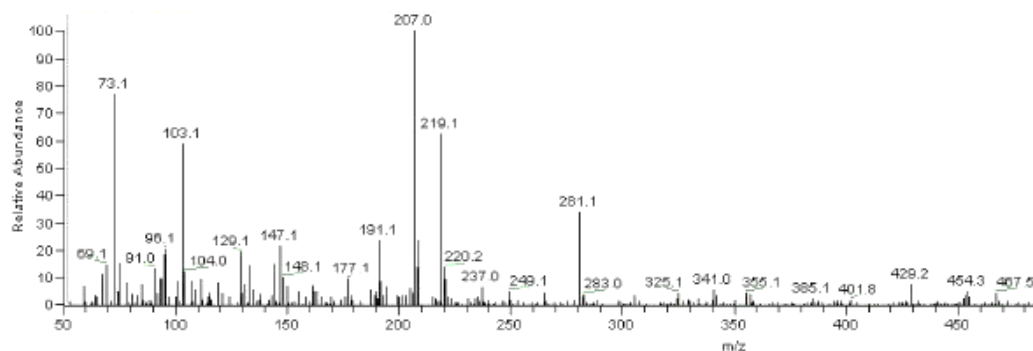


Figura 50. Espectre de masses del 1-monolinoleoglicerol

No s'ha pogut realitzar la comprovació de la correcta identificació d'aquest compost.

7. Conclusions

- Mitjançant la literatura consultada i l'experiment realitzat, s'ha assolit l'objectiu d'identificar els compostos presents en la *Conocephalum conicum*, tant a nivell qualitatiu com quantitatiu.
- En la mostra analitzada s'ha aconseguit identificar 37 compostos, 5 de la família dels terpenoides, 17 de la família dels àcids, 8 de la família dels alcohols, 3 de la família dels fitosterols i 4 pertanyents a altres famílies.
- S'han identificat varis compostos dels quals no hi havia literatura de lliure coneixement que constatessin la presència d'aquests en la *Conocephalum conicum*.
- No s'han pogut identificar gran part dels compostos trobats en la literatura ja que en la majoria d'ells s'utilitzaven mètodes diferents a l'utilitzat en aquest estudi, com per exemple *Ressonància Magnètica Nuclear* (NMR) i *Cromatografia de Gas Enantioselectiva*.

8. Bibliografia

ABAY, G., ALTUN, M., KARAKOC, O., GUL, F. i DEMIRTAS, I. 2013. Insecticidal Activity of Fatty Acid-Rich Turkish Bryophyte Extracts Against *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* [en línia], vol. 16, no. 10, pp. 806-816. ISSN 13862073. DOI 10.2174/13862073113169990049. Disponible a: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84893743844&partnerID=tZOtx3y1>.

ASAKAWA, Y. 1982. Chemical Constituents of the Hepaticae. En: W. HERZ, H. GRISEBACH i G.W. KIRBY (ed.), *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* [en línia]. Vienna: Springer Vienna, pp. 1-285. ISBN 978-3-7091-8677-0. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-8677-0_1.

ASAKAWA, Y. 2007. Biologically active compounds from bryophytes. *Pure and Applied Chemistry*, vol. 79, no. 4, pp. 557-580. ISSN 0033-4545. DOI 10.1351/pac200779040557.

EKK, V. Related compounds from the liverwort *mylza verrucosa*. , no. 7, pp. 1653-1655.

KREMER, P. 1976. Alkanoic acid in two liverwort specie . J « t »" ~. , vol. 15, no. Table 2.

LUDWICZUK, A., ODRZYKOSKI, I.J. i ASAKAWA, Y. 2013. Identification of cryptic species within liverwort *Conocephalum conicum* based on the volatile components. *Phytochemistry* [en línia], vol. 95, pp. 234-241. ISSN 00319422. DOI 10.1016/j.phytochem.2013.06.011. Disponible a: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.06.011>.

ASAKAWA, Y. 2001. Recent advances in phytochemistry of bryophytes-acetogenins, terpenoids and bis(bibenzyl)s from selected Japanese, Taiwanese, New Zealand, Argentinean and European liverworts. *Phytochemistry*, vol. 56, no. 3, pp. 297-312. ISSN 00319422. DOI 10.1016/S0031-9422(00)00454-4.

ASAKAWA, Y. 2004. Chemosystematics of the Hepaticae. *Phytochemistry*, vol. 65, no. 6, pp. 623-669. ISSN 00319422. DOI 10.1016/j.phytochem.2004.01.003.

GENETICS, P. i FEBRUARY, R. 1984. differentiation liverwort in natural *Conocephalum*. , pp. 133-139.

HARINANTENAINA, L., KIDA, S. i ASAKAWA, Y. 2007. Phytochemistry of three selected liverworts: *Conocephalum conicum*, *Plagiochila barteri* and *P. terebrans*. *ARKIVOC (Gainesville, FL, United States)* [en línia], vol. 2007, no. 7, pp. 22-29. ISSN 14246376. DOI kein. Disponible a: <http://www.arkivoc.com/arkivoc-journal/browse-arkivoc/2007/7/>.

LOWNDES, a. G. 1929. *Conocephalum conicum*. *Nature*, vol. 124, no. 1991, pp. 513-513. ISSN 0028-0836. DOI 10.1038/124513d0.

LU, Z.-Q., FAN, P.-H., JI, M. i LOU, H.-X. 2006. Terpenoids and bisbibenzyls from Chinese liverworts *Conocephalum conicum* and *Dumortiera hirsuta*. *Journal of Asian natural products research*, vol. 8, no. 1-2, pp. 187-192. ISSN 10286020. DOI WV41246LK360WM21 [pii]r10.1080/1028602042000325537.

LUDWICZUK, A., ODRZYKOSKI, I.J. i ASAKAWA, Y. 2013. Identification of cryptic species within liverwort *Conocephalum conicum* based on the volatile components. *Phytochemistry* [en línia], vol. 95, pp. 234-241. ISSN 00319422. DOI 10.1016/j.phytochem.2013.06.011. Disponible a: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.06.011>.

MARKHAM, K.R., PORTER, L.J., MUES, R., ZINSMEISTER, H.D. i BREHM, B.G. 1976. Flavonoid variation in the liverwort *Conocephalum conicum*: Evidence for geographic races. *Phytochemistry*, vol. 15, no. 1, pp. 147-150. ISSN 00319422. DOI 10.1016/S0031-9422(00)89072-X.

MASAO, T., FUMIHIRO, N., YOSHIYASU, F., SHOKO, H. i YOSHINORI, A. 1988. Bicyclogermacrene type sesquiterpenoid from the liverwort *Conocephalum conicum*. *Phytochemistry*, vol. 27, no. 10, pp. 3317-3319. ISSN 00319422. DOI 10.1016/0031-9422(88)80054-2.

MELCHING, S. i KÖNIG, W. a. 1999. Sesquiterpenes from the essential oil of the liverwort *Conocephalum conicum*. *Phytochemistry*, vol. 51, no. 4, pp. 517-523. ISSN 00319422. DOI 10.1016/S0031-9422(98)00769-9.

VALTEROV, I., UNELIUS, C.R., VRKO??, J. i NORIN, T. 1992. Enantiomeric composition of monoterpene hydrocarbons from the liverwort *Conocephalum conicum*. *Phytochemistry*, vol. 31, no. 9, pp. 3121-3123. ISSN 00319422. DOI 10.1016/0031-9422(92)83457-A.

ichn.iec.cat [en línia]. S.l.: s.n. Disponible a: <http://ichn.iec.cat/Bages/aquatic/Imatges/grans/12.htm>.

conocephalum @ www3.botany.ubc.ca [en línia]. S.l.: s.n. Disponible a: <http://www3.botany.ubc.ca/bryophyte/conocephalum.html>.

PILKINGTON, S. 1999. Liverwort reproductive structures – demystifying the jargon. [en línia], Disponible a: http://rbg-web2.rbge.org.uk/bbs/activities/field_bryology/FB108/BBS_FB108_Beginners_Corner.pdf.

GARILLETI, R. i ALBERTOS, B. 2012. *Atlas y Libro Rojo de los Briófitos Amenazados de España*. S.l.: s.n. ISBN 9788480148368.

UICN, U.M.P.L.N. 2001. *Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN, Version 3.1 segunda edición*. S.l.: s.n. ISBN 2831706343.

conocephalum-conicum @ *www.asturnatura.com* [en línia]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://www.asturnatura.com/especie/conocephalum-conicum.html>.

BASAS I JAUMANDREU, J. (2015). GEOQUÍMIQUES EN SISTEMES AQUÀTICS.